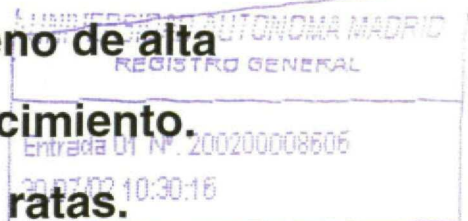




Universidad Autónoma de Madrid
Facultad de Medicina

TESIS DOCTORAL

**Prótesis traqueal de polietileno de alta
densidad y hormona de crecimiento.
Estudio experimental en ratas.**

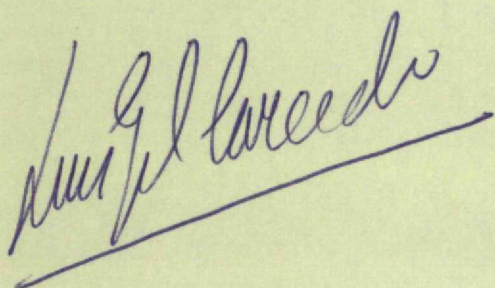
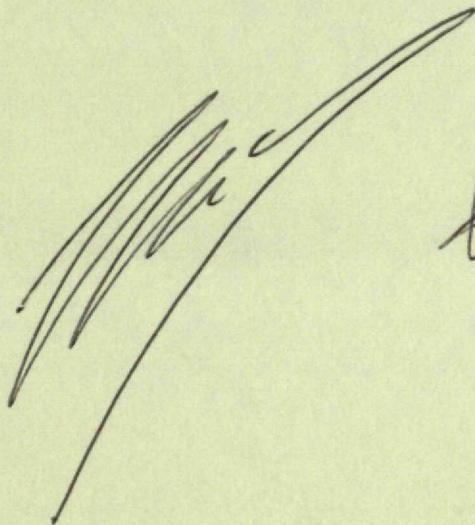


M^a de los Angeles Cerdeira Fernández
Madrid 2002



Res FM. 22645

Reunido el Tribunal que suscribe en el día de la
fecha, acordó calificar la presente Tesis Doctoral
con la censura de **SOBRESALIENTE CUM LAUDE**
Madrid, 12-xii-2002

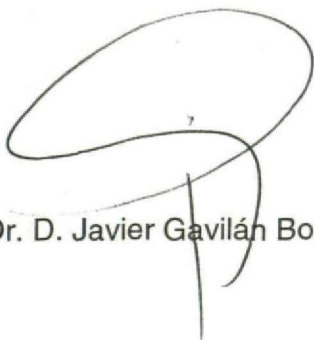
A handwritten signature in blue ink, enclosed within a large, hand-drawn oval.A handwritten signature in blue ink, consisting of a stylized 'J' followed by a checkmark-like stroke.A handwritten signature in blue ink that reads "Juan Gil Laredo", underlined.A large, stylized handwritten signature in blue ink, featuring multiple overlapping loops and a long, sweeping tail.A handwritten signature in blue ink, appearing to be a stylized 'A' or 'M'.

El Dr. D. Javier Gavilán Bouzas, Profesor Titular de Otorrinolaringología de la Facultad de Medicina de la Universidad Autónoma de Madrid, y el Dr. D. Carlos Gamallo Amat, Profesor Titular de Anatomía Patológica de la misma facultad.

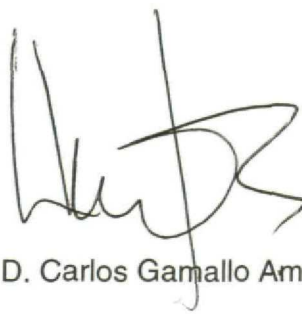
Certifican:

Que Dña. M^a de los Angeles Cerdeira Fernández ha realizado bajo su dirección el trabajo titulado "Prótesis traqueal de polietileno de alta densidad y hormona de crecimiento. Estudio experimental en ratas", el cual reúne las condiciones necesarias para su presentación como Tesis Doctoral ante el tribunal que en su día se designe.

Madrid, 1 de julio de 2002



Fdo.: Dr. D. Javier Gavilán Bouzas



Fdo.: Dr. D. Carlos Gamallo Amat

Dedicatoria

A mi madre por su paciencia y ternura

Agradecimientos

Al Dr. Javier Gavilán Bouzas, director de esta tesis doctoral, por sus consejos y ayuda, en la elaboración de la misma.

Al Dr. Carlos Gamallo Amat, co-director, por la realización del estudio anatomopatológico y por su estímulo continuo. Sin él este trabajo no se hubiese llevado a cabo.

Al personal del Servicio de Cirugía Experimental del Hospital La Paz. A los Drs. Enrique de Miguel e Ignacio Gómez de Segura por permitirme utilizar las instalaciones y todo el material allí disponible. Al resto de sus componentes por su colaboración y apoyo en todo momento, en especial a Pablo que no sólo me enseñó el manejo de los animales sino también me evitó ir al animalario algún fin de semana.

A Clotilde, auxiliar del Servicio de Anatomía Patológica del Hospital La Paz, por la realización de las preparaciones histológicas.

A Adolfo Toledano que me enseñó la técnica microquirúrgica.

A Juan Díez Pardo por la realización de las fotografías quirúrgicas. A Miguel por su ayuda con la informática.

A Ana y Carmen, de la biblioteca del Hospital Universitario La Paz. A Angel y Paco, de los laboratorios farmacéuticos Schering-Plough y Pfizer por su colaboración en la bibliografía.

A Carmen, secretaria del Servicio de ORL, por servir de nexo de unión con el Dr Gavilán.

A mis familiares, amigos y compañeros, que me han aguantado y animado a lo largo de estos años, y en especial a Jesús por ser mi apoyo en la última fase.

Indice

<i>Hipótesis</i>	1
<i>Introducción</i>	4
Tratamiento de las estenosis laringotraqueales	5
1 Esteroides	6
2 Láser	6
3 Técnicas de dilatación.....	7
4 Resección y anastomosis término-terminal	8
5 Laringotraqueoplastia.....	10
5.1 Injertos	10
5.2 Técnica de Rethi	11
5.3 Técnica de Evans	11
5.4 Técnica del colgajo deslizable	12
6 Moldes laringotraqueales	13
6.1 Moldes endoscópicos	13
6.2 Tubo en T de Montgomery.....	14
6.3 Quilla de silicona	15
7 Prótesis	16
7.1 Biocerámicas	19
7.2 Metales	19
7.3 Polímeros.....	19
7.3.1 Siliconas	20
7.3.2 Medpor®	21
8 Transplantes.....	22

Hormona de crecimiento	23
1 Estructura	24
2 Síntesis.....	24
3 Control de la secreción y de la acción.....	25
4 Acciones biológicas.....	27
4.1 Acciones directas.....	27
4.2 Acciones indirectas	28
5 Efectos terapéuticos.....	29
5.1 Deficiencia de GH.....	29
5.2 No deficiencia	29
5.3 Condiciones catabólicas	29
6 Efectos secundarios.....	32
7 Tráquea y GH.....	32
 <i>Material y métodos.....</i>	 <i>34</i>
Material.....	35
1 Animales de experimentación.....	35
2 Material de conservación de los animales	36
3 Material de la prótesis	36
4 Hormona de crecimiento	37
5 Material quirúrgico.....	37
6 Material de anestesia y analgesia	38
7 Material antibiótico	39
8 Material para estudio histológico.....	39
9 Material fotográfico.....	40
Métodos.....	40
1 Diseño del estudio.....	40
1.1 Estudio preliminar	40
1.1.1 Primera fase	40
1.1.2 Segunda fase	40
1.2 Estudio experimental	41
2 Técnica anestésica	42
3 Técnica quirúrgica.....	42
3.1 Estudio preliminar	42
3.1.1 Primera fase	42

3.1.2 Segunda fase	43
3.2 Estudio experimental	46
4 Parámetros de evaluación.....	49
Resultados.....	50
1 Estudio preliminar.....	51
1.1 Primera fase.....	51
1.2 Segunda fase.....	53
1.2.1 Prótesis de 6 mm de longitud y forma de teja	53
1.2.2 Prótesis de 6 mm de longitud y sección cilíndrica.....	55
1.2.3 Prótesis de 3 mm de longitud y forma de teja	57
1.2.4 Prótesis de 3 mm de longitud y sección cilíndrica.....	58
1.2.5 Resumen	60
2 Estudio experimental.....	61
2.1 Estudio histológico en el grupo tratado con suero salino.....	63
2.2 Estudio histológico en el grupo tratado con GH.....	68
Discusión.....	72
Discusión del método	73
Discusión de los resultados.....	79
Conclusiones	87
Bibliografía.....	89

Abreviaturas

Al₂O₃: óxido de aluminio.

APUD: sistema de captación y descarboxilación de los precursores de aminas.

BUN: nitrógeno ureico sanguíneo.

CS-A: gen de la familia GH.

CS-B: gen de la familia GH.

CS-L: gen de la familia GH.

DMSO: dimetilsulfoxido.

EGF: factor de crecimiento epidérmico.

Er:YAG: láser de erbio.

EVGF: factor de crecimiento del endotelio vascular.

FGF: factor de crecimiento fibroblástico.

GH: hormona de crecimiento.

GHBP: proteína de unión a GH.

GH-N: gen de la familia GH.

GHR: receptor de GH.

GHRH: factor hipotalámico estimulador de la secreción de GH.

GH-V: gen de la familia GH.

HA-GHBP: proteína de unión a GH de alta afinidad.

Holmiun:YAG: láser de holmio.

IGF: factor de crecimiento similar a la insulina o somatomedina.

IGFBP 1-5: proteínas de unión a somatomedinas.

IGF I: somatomedina C.

IGF II: somatomedina A.

KPT/532: láser KPT.

LA-GHBP: proteína de unión a GH de baja afinidad.

láser CO₂: láser de anhídrido carbónico.

Nd:YAG: láser de neodimio.

OHAp: hidroxiapatita cálcica.

PDMS: polidimetilsiloxano.

PMN: leucocitos polimorfonucleares.

PHDPE: polietileno de alta densidad poroso.

RIA: radioinmunoanálisis.

Si O₂: óxido de silicio.

SS: somatostatina.

TCP: fosfato tricálcico.

TGF α : factor de crecimiento de transformación α .

TGF β : factor de crecimiento de transformación β .

Ti O₂: óxido de titanio.

Zr O₂: óxido de zirconio.

Hipótesis

Hipótesis

Ante un paciente con estenosis laríngea o traqueal, congénita o adquirida, nos planteamos dos desafíos: la creación de una luz adecuada, y su mantenimiento para garantizar la función respiratoria del paciente.

La función de la tráquea, aparentemente simple — permitir el paso del aire —, hace esperar una reconstrucción potencialmente sencilla. Sin embargo la estructura de la tráquea humana, con su rigidez, su naturaleza única, su aporte sanguíneo segmentado y su corta longitud, presenta serios problemas para la reconstrucción directa¹.

Además, las estenosis traqueales presentan etiologías múltiples, lo que hace difícil encontrar un método único para su reparación. Las estenosis severas requieren en la mayoría de los casos que el paciente se someta a múltiples intervenciones quirúrgicas².

La reparación más fisiológica sería la sustitución de la porción traqueal estenótica por otra sana, es decir, el trasplante de tráquea, pero todavía está sin resolver el problema de la revascularización del injerto traqueal³. En su defecto se podría intentar emplear un material biocompatible.

En este trabajo se ha empleado un material sintético —un polietileno de alta densidad— no fluorado, con poros en disposición regular, llamado Medpor®. Al no ser fluorado es más duro y menos compresible que otros polietilenos, pero conserva suficiente flexibilidad para permitir moldearlo durante la intervención. Su naturaleza porosa, así como la disposición regular de los poros, permite el crecimiento

de tejido a su través. La naturaleza del Medpor[®] hace pensar que tendrá la rigidez suficiente para mantener la luz traqueal y la porosidad adecuada para el crecimiento del epitelio respiratorio. Esta constituye la primera hipótesis de este trabajo.

La hormona de crecimiento (GH) es una hormona anabólica secretada por la hipófisis anterior que en la rata estimula el crecimiento de ciertos tejidos al aumentar el número de células y la cantidad de tejido extracelular⁴. En este trabajo se administra hormona de crecimiento tras la colocación de la prótesis de Medpor[®], con la intención de acelerar el proceso de reepitelización.

La segunda hipótesis de trabajo es que el Medpor[®] se reepiteliza más rápidamente con la administración exógena de GH.

Por consiguiente, los objetivos de este trabajo son:

- Estudiar, en ratas Wistar, la viabilidad de una prótesis de Medpor[®] como material de sustitución de la tráquea.
- Determinar si la administración exógena de hormona de crecimiento mejora la epitelización de una prótesis de Medpor[®] tras su colocación en la tráquea de ratas Wistar.

Introducción

Introducción

Tratamiento de las estenosis laringotraqueales

El tratamiento de las estenosis laringotraqueales es un tema complejo todavía sin resolver. Múltiples autores han buscado métodos para mejorar los resultados actuales.

Según McInnes⁵, los requerimientos para el éxito en la reparación de una estenosis son:

- La rigidez de las paredes.
- Una luz adecuada.
- Un recubrimiento mucoso.

Algunos procedimientos terapéuticos sólo permiten el manejo primario de una estenosis, que luego será tratada de forma más agresiva con otras técnicas, o bien el tratamiento de recidivas leves, tras haber usado otros métodos quirúrgicos.

Otras técnicas intentan resolver el problema de forma definitiva, pero, a pesar de todo, no siempre se consigue la reparación con una sola intervención, siendo necesario repetir el procedimiento o completar el tratamiento con otra técnica. En el estudio de Gavilán y cols², los 60 pacientes tratados se sometieron a un total de 117 procedimientos quirúrgicos, con un rango de una a diez intervenciones por paciente.

En este apartado vamos a repasar los procedimientos que se han utilizado a lo largo de la

historia para resolver el problema de la estenosis laringotraqueal. Algunos de ellos se mencionan a modo de curiosidad o por ser considerados clásicos en el tratamiento de las estenosis. Otros, constituyen la base de la reparación laringotraqueal en la actualidad.

1 Esteroides

Estos fármacos comenzaron a utilizarse en 1950 para el tratamiento de cicatrices hipertróficas y queloides^{6,7}. Cobb y Sudderth⁸, en 1972, emplearon por primera vez los corticoides, mediante inyecciones intralesionales, para el tratamiento de la estenosis laríngea. En la década de los setenta estos y otros autores⁹⁻¹² utilizaron los esteroides solos o combinados con otros procedimientos (dilatación, láser CO₂...), a veces junto con antibióticos sistémicos¹³⁻¹⁵. Los resultados fueron muy variables y en general poco satisfactorios.

Peerless y cols¹⁶ utilizaron el dipropionato de beclometasona por vía inhalatoria para eliminar tejido cicatricial, con buenos resultados, al igual que otros autores¹⁷.

2 Láser

El láser se empezó a utilizar en cirugía en 1970, acoplándose posteriormente al broncoscopio, lo que permitió nuevas posibilidades para el manejo de las estenosis traqueales¹⁸ (figura 1).

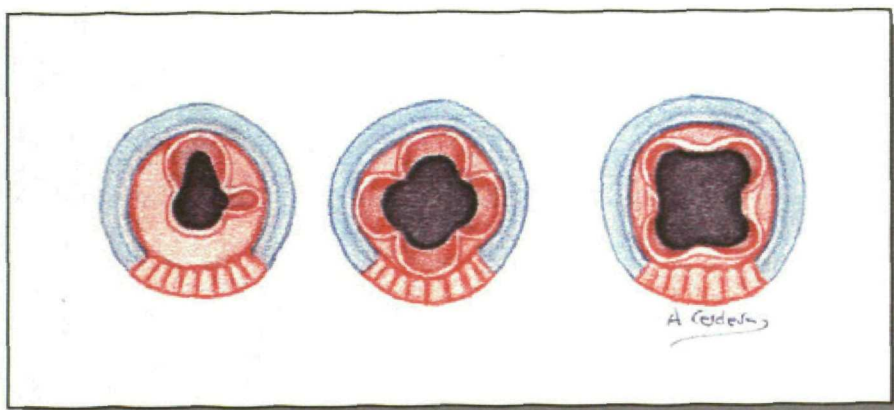


Figura 1. Tratamiento con láser.

El láser CO₂ fue el primero en utilizarse. Diversos autores publicaron sus trabajos, con resultados generalmente buenos¹⁹⁻²⁵. Dedo y Sooy²⁶ utilizaron el láser CO₂ para crear un colgajo de mucosa (figura 2), que previene la formación de nuevas cicatrices²⁷⁻²⁹. A finales de la década de los 80 se empleó el láser Nd:YAG, con resultados no tan satisfactorios como se esperaba en un principio²⁰. En 1990, el láser Er:YAG³⁰ combinó ventajas de los dos anteriores, y posteriormente se han utilizado: el Argón, el KPT/532 y el Holmiun:YAG³¹⁻³².

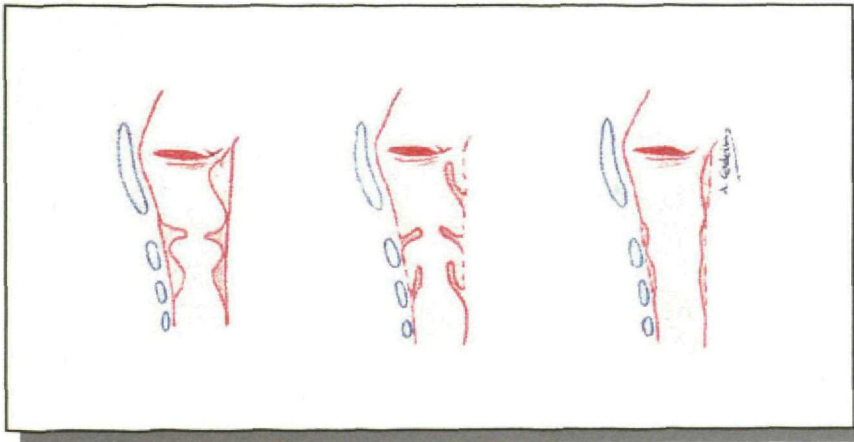


Figura 2. Creación de colgajos de mucosa con láser.

La cirugía láser es un instrumento de fácil manejo, útil tanto en niños como en adultos³³⁻³⁴, pero sólo es eficaz en el tratamiento de granulomas y estenosis pequeñas no circunferenciales, sin pérdida del soporte cartilaginoso.

3 Técnicas de dilatación

La dilatación de segmentos estenóticos puede hacerse con broncoscopios rígidos, flexibles, bujías o tubos endotraqueales de distintos tamaños^{35,36} (figura 3). Su utilización ha tenido un éxito limitado. Realmente no se diseñó para reemplazar la reconstrucción traqueal primaria sino más bien como preparación del paciente para la eventual reparación posterior o en aquellos pacientes que no son candidatos a una intervención quirúrgica mayor^{37,38}.

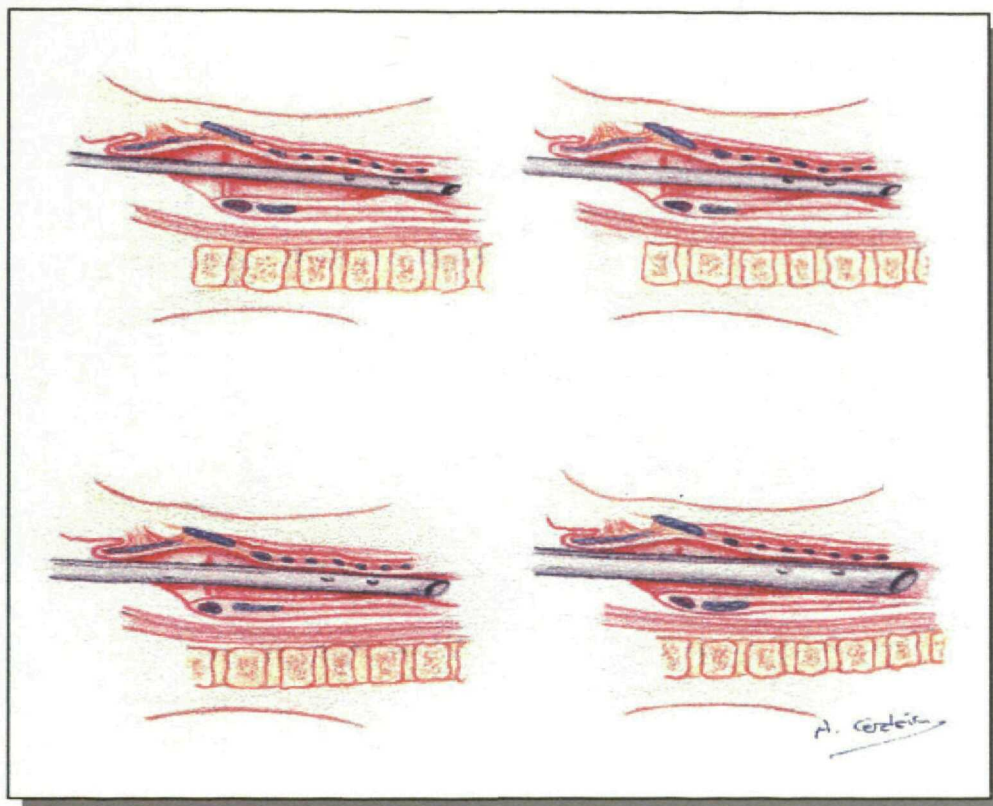


Figura 3. Dilatación con broncoscopio.

4 Resección y anastomosis término-terminal

En 1953 Conley³⁹ introdujo el concepto de resección segmentaria y anastomosis término-terminal (figura 4), considerando su mejor indicación las lesiones obstructivas de la tráquea.

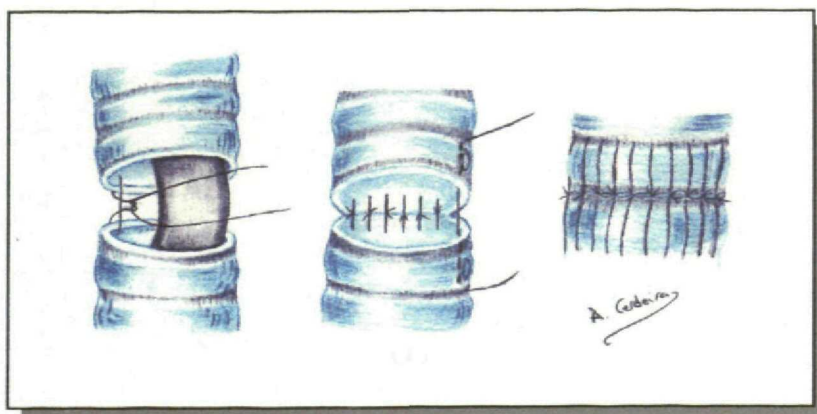


Figura 4. Anastomosis término-terminal.

Grillo¹, en 1972, reexaminó el potencial de movilización de la tráquea, y Montgomery⁴⁰, en 1974, resumió en tres procedimientos básicos los distintos métodos para ganar longitud y evitar tensión en la sutura, tras una anastomosis primaria:

- Movilización de la porción distal de la tráquea mediante toracotomía.
- Incisión de los ligamentos anulares entre los anillos traqueales (figura 5).
- Desprendimiento de la laringe o del hueso hioides de sus inserciones musculares superiores (figuras 6, 7).

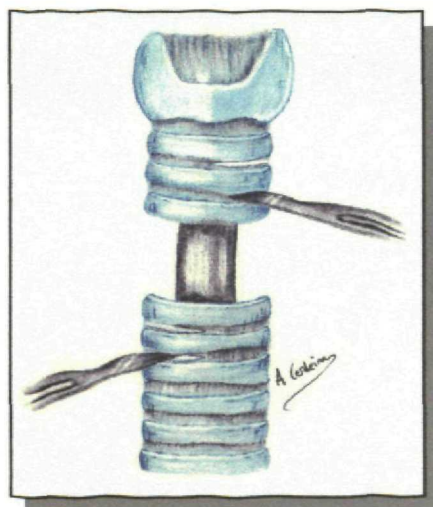


Figura 5. Incisión ligamentos anulares.

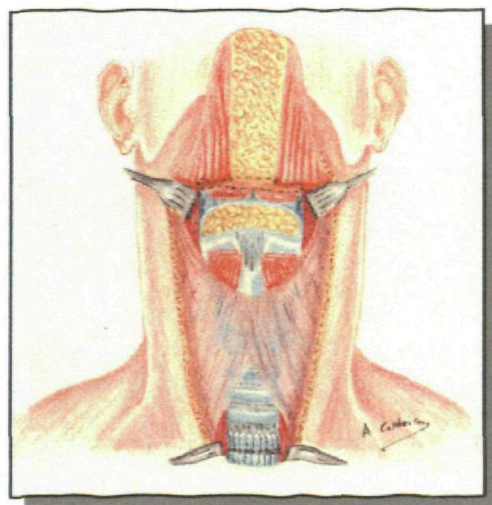


Figura 6. Desprendimiento infrahiodeo.

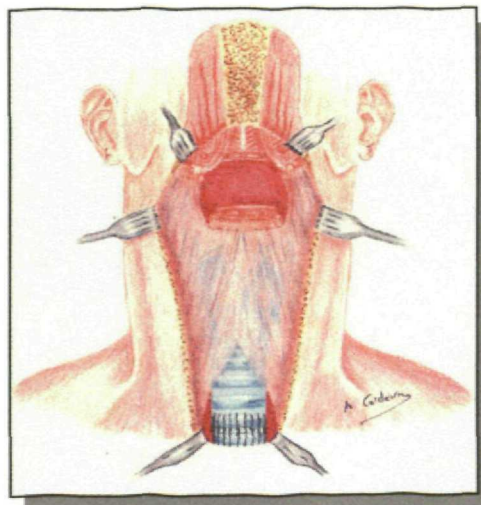


Figura 7. Desprendimiento suprahiodeo.

En el caso de estenosis subglótica alta, Gerwat y Bryce⁴¹ y Pearson y cols⁴² describieron la anastomosis tras la resección parcial del cartílago cricoides, conservando los nervios laríngeos recurrentes. Grillo^{43,44} propuso una técnica similar conservando un colgajo de mucosa posterior traqueal.

La resección traqueal y anastomosis término-terminal es un método seguro y efectivo⁴⁵, sobre todo en pacientes con estenosis menores de 3 cm⁴⁶, y evita la utilización de múltiples procedimientos.

5 Laringotraqueoplastia

Existen múltiples variedades de intervenciones quirúrgicas destinadas a reparar un segmento laringotraqueal, que se engloban bajo el concepto de laringotraqueoplastia. Las más comunes son:

5.1 Injertos

A lo largo de la historia diferentes autores han usado diversos materiales para la reparación de los defectos laríngeos y/o traqueales.

Entre ellos podemos destacar: pleura y pericardio⁴⁷⁻⁵⁰; pericondrio^{51,52}; periostio^{53,54}; fibrocartílago⁵⁵; fascia lata⁵⁶; mucosa oral⁵⁷; dermis⁵⁸; piel^{59,60}; músculo esternohioideo^{61,62}; aorta⁶³⁻⁵; esófago⁶⁶; yeyuno^{67,68}; íleon⁶⁹; vejiga urinaria⁷⁰⁻⁷²; cartílago costal⁷³⁻⁷⁷ (figura 8), auricular⁷⁸⁻⁸⁷, tiroideo⁸⁸⁻⁹¹, epiglótico⁹² y/o nasal⁹³⁻⁹⁹, con o sin revestimiento; cresta iliaca¹⁰⁰; y hueso hioides¹⁰¹⁻¹⁰⁷, vascularizado o no. Cada uno tiene sus ventajas e inconvenientes.

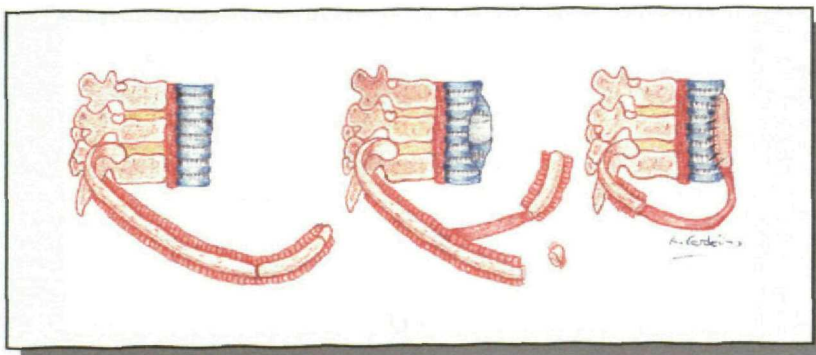


Figura 8. Obtención de un injerto de cartílago costal.

5.2 Técnica de Rethi

En 1956 Rethi¹⁰⁸ describió una técnica para el tratamiento de las estenosis subglóticas que consiste en la realización de una incisión vertical anterior desde el borde superior tiroideo hasta el segundo anillo traqueal y otra posterior a través del cricoides y la parte alta de la tráquea, pudiéndose prolongar hasta el área interaritenoides si fuese necesario. Posteriormente colocaba moldes y realizaba dilataciones durante muchos meses.

Otros autores¹⁰⁹⁻¹¹² han completado esta técnica, interponiendo cartílagos e injertos de distintos tipos entre los bordes de las incisiones (figura 9).

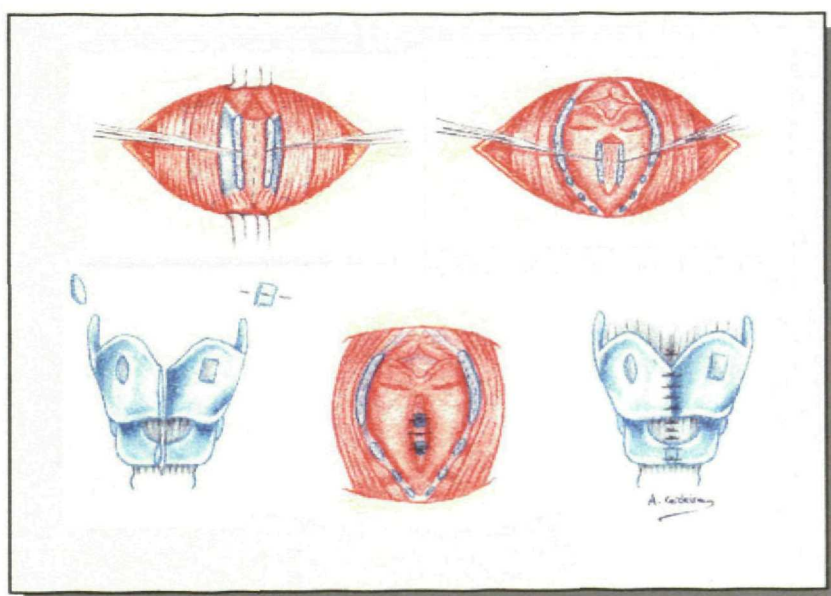


Figura 9. Cartílago tiroideo en incisiones posterior y anterior.

Cotton y cols¹¹³, en 1992, modificaron la técnica de Rethi, añadiendo incisiones en las paredes laterales cricoideas.

5.3 Técnica de Evans

En 1981 Cotton y cols¹¹⁴ emplearon la técnica descrita por Evans y Todd¹¹⁵ en 1974 para el

tratamiento de las estenosis traqueales infantiles. Esta técnica consiste en la realización de una incisión, en forma de torre de castillo, en la pared anterior de la tráquea (figura 10).

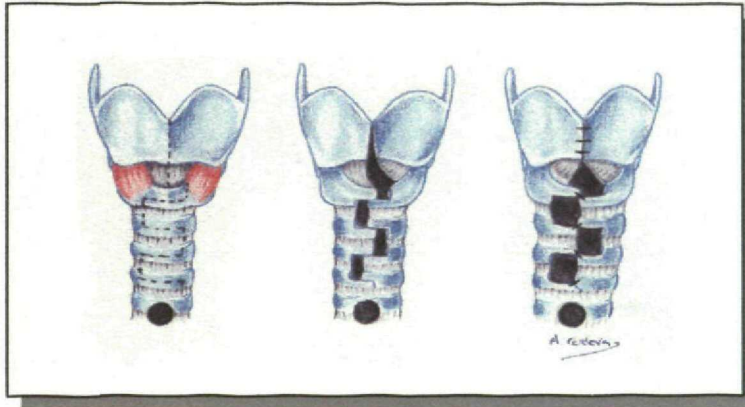


Figura 10. Incisión en torre de castillo (Técnica de Evans).

5.4 Técnica del colgajo deslizable

Gates y Tucker¹¹⁶, en 1989, proponen la escisión subtotal de los 2/3 anteriores traqueales y la utilización de un colgajo deslizable, para la reconstrucción de la tráquea (figura 11). Posteriormente se coloca un molde de tipo Aboulker.

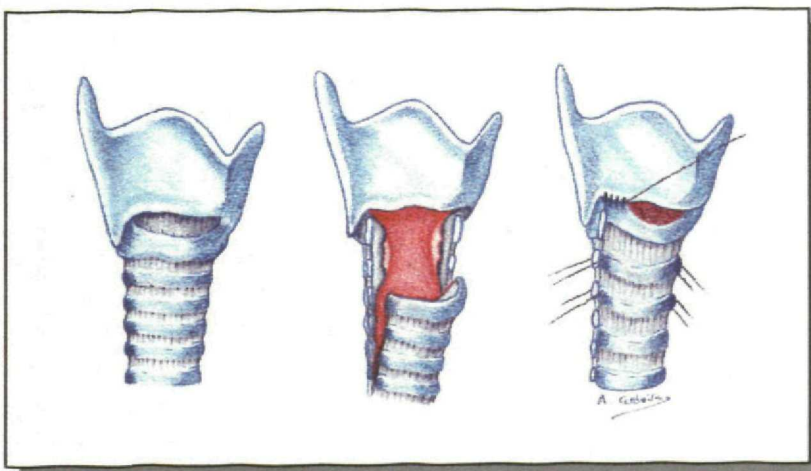


Figura 11. Técnica del colgajo deslizable.

Tsang y cols¹¹⁷, en 1989, utilizan un nuevo método quirúrgico, la traqueoplastia deslizada, ensanchando la tráquea con tejido nativo (figura 12). Otros autores¹¹⁸⁻¹²¹ la han empleado como método para el tratamiento de estenosis traqueales congénitas extensas.

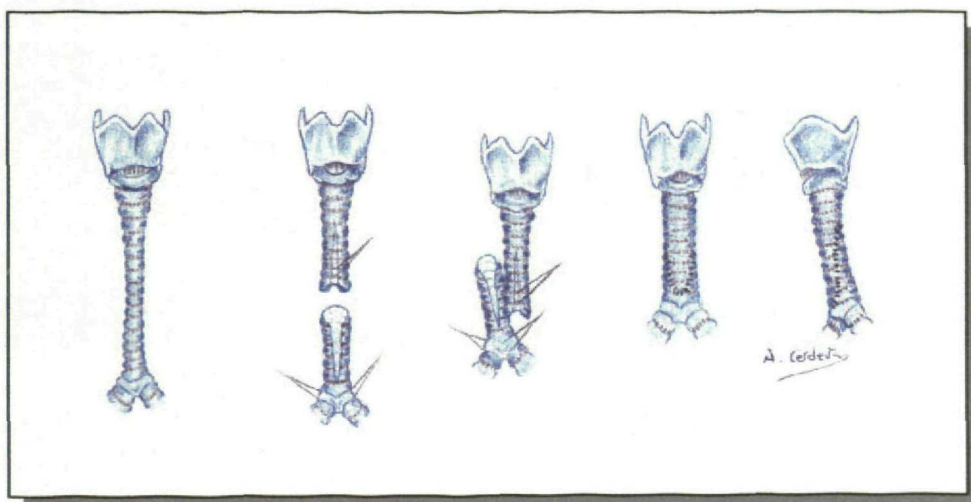


Figura 12. Traqueoplastia deslizada.

6 Moldes laringotraqueales

Tras la realización de una laringotraqueoplastia se puede dejar colocado un molde, para evitar el colapso o la formación de granulaciones. Los moldes pueden ser internos o externos.

6.1 Moldes endoscópicos

La utilización de moldes o dilatadores internos como tratamiento de la estenosis laríngea comenzó con Schmiegelow¹²² en 1929. Posteriormente diversos autores han aportado su experiencia con numerosos tipos de material: Teflon¹²³, Portex^{®124}, silicona¹²⁵⁻¹³¹, acero (Gianturco[®], Wallstent[®])¹³²⁻¹³⁴, nitinol¹³⁵⁻¹³⁸ (aleación de níquel y titanio) (figura 13), titanio¹³⁹, ácido poliglicólico o polímeros láctido-glicólico¹⁴⁰.

La reconstrucción de una estenosis traqueal puede hacerse con un molde interno rodeado de una lengüeta de colágeno o un injerto de piel o mucosa, aunque la histología del material de biopsia

muestra la capacidad de la tráquea para la regeneración del epitelio, lo que pone en duda la necesidad de injertos que promuevan la epitelización.

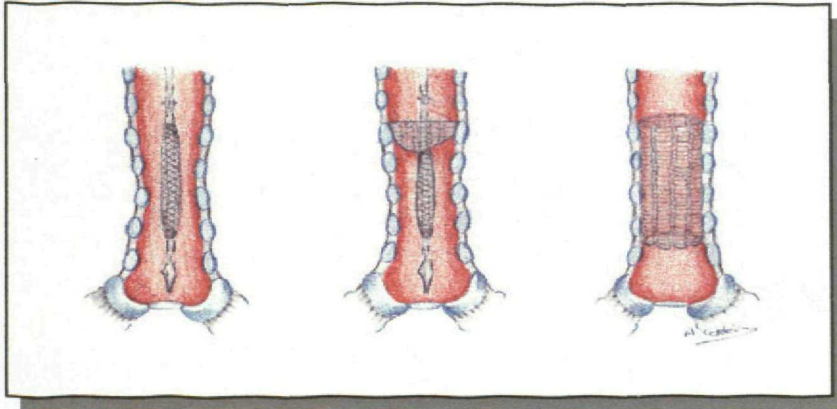


Figura 13. Malla interna.

6.2 Tubo en T de Montgomery

En 1964 Montgomery¹⁴¹ describió un molde acrílico de dos piezas, que se usó como soporte para la reconstrucción de la tráquea cervical. Un año más tarde apareció el tubo en T de silicona (figura 14).

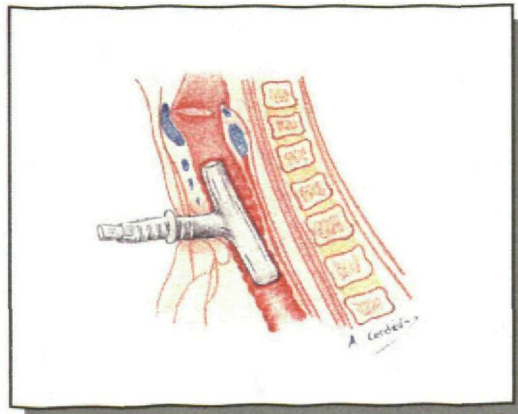


Figura 14. Tubo en T.

El tubo en T se diseñó para mantener una vía aérea adecuada, actuando como soporte en una tráquea estenótica, reconstruida o modificada. Existen diversos tamaños, lo que permite adecuar el tubo

al calibre traqueal del paciente. El diámetro externo puede ser de 4,5 a 16 mm, siendo los de 10 a 13 mm los más comúnmente utilizados en adultos. El tiempo de mantenimiento es variable^{142,143}.

Morris y cols¹⁴⁴ adaptaron el tubo en T con un tubo de traqueotomía fenestrado.

6.3 Quilla de silicona

McNaught¹⁴⁵, en 1950 y Montgomery y cols¹⁴⁶, en 1970, propusieron el abordaje de la estenosis laríngea por medio de una tirotomía anterior y la colocación de una quilla de tantalio entre las cuerdas vocales durante 6-8 semanas. Sin embargo, con esta técnica no obtuvieron buenos resultados, ya que se producía una reestenosis con tejido de granulación en la comisura anterior.

Debido a esto se sustituyó la quilla de tantalio por otra similar de silicona. Posteriormente Montgomery diseñó un nuevo modelo, con aspecto de paraguas, con una porción extralaríngea, que protege la tirotomía, y otra intralaríngea, más delgada, que impide las sinequias internas (figura 15).

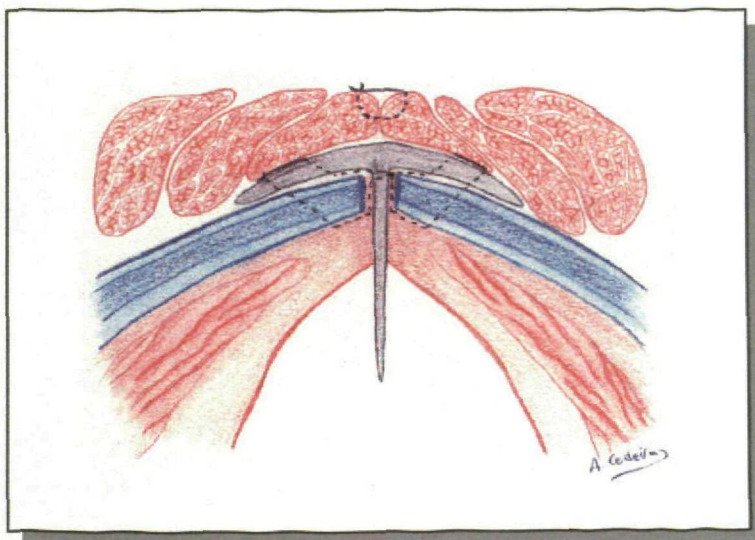


Figura 15. Quilla de silicona.

De todas formas se vio que la quilla no podía permanecer más de 2-3 semanas si se quería evitar el tejido de granulación y obtener una epitelización correcta.

7 Prótesis

El precursor de las lesiones estenóticas es la presencia de úlceras mucosas en la tráquea, producidas por trauma directo o por necrosis isquémica. Además pueden añadirse otros factores como infección, esteroides o hipotensión. No obstante, hay traqueotomías sin problemas, intubaciones traqueales de corta duración que no producen estenosis o cuerpos bronquiales de permanencia prolongada que dan poca o ninguna reacción. De alguna manera el tiempo no parece que sea el único factor en la aparición de una estenosis laringotraqueal. Todo esto hace pensar, que una prótesis fijada con propiedad en el eje longitudinal de la tráquea, sometida a movimiento mínimo, se tolera bien durante periodos prolongados, mientras se produce la reparación traqueal.

Har-El y cols¹⁴⁷ consideran que una prótesis ideal debe:

- Ser herméticamente cerrada.
- Ser flexible, pero no colapsable.
- Permitir el crecimiento de tejido.
- Provocar mínima reacción inflamatoria.
- Ser capaz de resistir infecciones.
- No producir tejido de granulación.
- Inhibir la actividad fibroblástica intraluminal y la fibrosis.
- Ser capaz de desarrollar una cubierta mucosa intraluminal.
- No ser carcinogénica.

Las prótesis artificiales presentan un problema biológico, derivado de la colocación de un tejido extraño sobre un lecho de tejido conectivo expuesto a contaminación¹⁴⁸. Existe el peligro de dehiscencia o migración de la prótesis y pueden producirse granulaciones, cicatrices, mediastinitis o incluso erosión de vasos importantes con hemorragias fatales^{1,66}.

De todas formas, los materiales sintéticos tienen ciertas ventajas¹⁴⁹:

- No se reabsorben al pasar el tiempo, a diferencia del hueso.

- No es necesario realizar otra intervención para la obtención del injerto.
- Suelen ser prefabricados, por lo que se reduce el tiempo quirúrgico.
- Pueden moldearse para adecuarlos individualmente a cada paciente.
- Tienen larga duración.

El material implantado debe cumplir ciertas condiciones¹⁵⁰:

- Ser biológicamente compatible.
- No ser cancerígeno.
- No ser alergénico.
- Ser resistente a la reabsorción (excepto cuando ésta sea un objetivo) y a la deformación.
- Fijarse fácilmente al hueso, cuando se use en su entorno.
- No permitir el crecimiento de microorganismos.
- Ser fácil de moldear, extirpar y esterilizar.
- Ser radioopaco, con escasa conductibilidad térmica y eléctrica.
- No interferir con la tomografía computadorizada y la resonancia magnética.

Durante muchos años el objetivo principal a la hora de desarrollar un biomaterial era que fuese químicamente inerte¹⁵¹. Los fluidos corporales son altamente corrosivos. En ellos existe un gran número de iones que entrarán en contacto con las prótesis. Además se produce una interfase entre el implante y el tejido huésped en la que influyen factores relacionados con uno y con otro.

Los biomateriales pueden clasificarse según diferentes consideraciones¹⁵². En 1979, Osborn¹⁵³ los clasificó según sus características fisiológicas en:

- Biotolerantes.
- Bioinertes .
- Bioactivos.

En los dos primeros grupos hay un componente negativo, aunque el huésped tolera el primero y no existe una respuesta local en el segundo. El tercer grupo de materiales provocan una respuesta

adecuada del huésped.

Black¹⁵³, en 1992, amplió esta clasificación en:

- Inerte.
- Interactivo.
- Viable.
- Reimplantable.

Los materiales implantados en el cuerpo humano dependen del lugar donde se van a aplicar, los materiales utilizados para reemplazar tejidos blandos son diferentes a los que reemplazan tejidos duros. Sin embargo estas diferencias pueden estar en el proceso de fabricación y/o en la microestructura del material.

En los años 70 los biomateriales eran materiales industriales, que podían tener cierta utilidad biológica. Hoy en día, los biomateriales son diseñados, producidos y procesados con el único propósito de encontrarles una aplicación en el campo de la clínica. Es fácil entender que el paciente como receptor o el cirujano como usuario no necesitan biomateriales, necesitan componentes, partes y sistemas médicos fabricados con biomateriales. De hecho, los biomateriales son específicamente diseñados y producidos para cada sistema médico o instrumento.

Los biomateriales pueden clasificarse como: biomédicos, con un origen artificial (metales, cerámicas, polímeros...) y biológicos, con un origen natural, animal o humano (colágeno, quitina...)¹⁵⁴. En todos los casos deben ser química, mecánica y clínicamente compatibles. Las propiedades de un implante dependen de factores biológicos (estructura cristalina, composición química), mecánicos (microestructura, dislocaciones, porosidad) y cinéticos (superficie, tamaño, porosidad, defectos)¹⁵².

La elección de un biomaterial no sólo depende de la composición, también de la concentración de cada elemento en el implante y de su degradación, que tendrá lugar en contacto con tejidos vivos¹⁵⁵. Según la naturaleza del material se pueden clasificar en: cerámicas, metales, polímeros y compuestos¹⁵⁶⁻¹⁶².

7.1 Biocerámicas

Desde el desarrollo del Biocristal[®] por Hench¹⁶³ en 1971, se han desarrollado diversos tipos de cristales, cerámicas-cristal y cerámicas bioactivas¹⁶⁴. Dentro de las cerámicas algunas son bioinertes, es decir, tienen muy poca o ninguna influencia sobre los tejidos vivos circundantes (α - Al_2O_3 , ZrO_2 , TiO_2). Otras, sin embargo son bioactivas, con una superficie reactiva, capaz de unirse al hueso vivo (OHAp, TCP, otros fosfatos). También son bioactivos los cristales y las cerámicas-cristal¹⁵².

Los cristales bioactivos tienen excelente biocompatibilidad, posiblemente debido a su proximidad al carbón en la tabla periódica. El silicio tiene la misma valencia que el carbón y también es capaz de formar cuatro enlaces químicamente estables. La forma de silicio utilizada en los cristales bioactivos es el sílice (SiO_2). A diferencia de la silicona, el sílice es una estructura cristalina más que un polímero filamentosos de partículas de silicio. No es una goma elástica, sino más bien un material sólido, duro y transparente compuesto de óxido de silicio, óxido de sodio, pentóxido de fósforo y óxido de calcio. Las modificaciones en las concentraciones de estos componentes cambian las características físicas de los cristales bioactivos incluyendo su capacidad de fijación al hueso¹⁴⁹.

Daniel¹⁶⁵, en 1948, presentó el primer estudio experimental sobre la reparación de defectos circunferenciales traqueales, uno de los materiales utilizados fue el cristal. Hirano y cols¹⁶⁶ realizaron la experiencia con hidroxiapatita y Amedee y cols¹⁶⁷ con anillos de Al_2O_3 .

7.2 Metales

Los metales se han utilizado para reemplazar componentes estructurales del cuerpo humano durante muchos años¹⁶⁸. Diversos autores, como Daniel¹⁶⁵, Bucher y cols¹⁶⁹, Keshishian y cols¹⁷⁰, así como Bailey y Kosoy¹⁷¹ usaron acero inoxidable. También se ha utilizado vitalio^{165,172,173} y tantalio¹⁷⁴.

7.3 Polímeros

Pueden ser naturales o sintéticos, y en ambos casos bioestables, para implantes permanentes; o

biodegradables, para implantes temporales¹⁵². Los polímeros al igual que las proteínas presentan estructuras primaria, secundaria, terciaria y cuaternaria¹⁷⁵.

Algunos ejemplos de polímeros son los derivados de la celulosa, colágeno, epoxi-resinas, albúmina, policarbonato, polialkil cianocrilato, poliamidas, polielectrolitos/hidrogel, poliacrilonitrilo, poliláctido-glicólido¹⁷⁶⁻¹⁷⁸ (figura 16), polietileno teretalato, polivinil clorido, poliuretano^{179,180}, polihidroximetil metacrilato, metilmetacrilato¹⁴⁷, polipropileno¹⁸¹⁻¹⁸⁴ (Prolene®, Marlex®) y copolímeros de estireno, polisiloxanos¹⁸⁵⁻¹⁸⁸ (siliconas), polivinil alcohol, polietileno¹⁸⁹, polietileno alta densidad¹⁹⁰⁻¹⁹⁶ (Marlex® duro, Biopor®, Medpor®), politetrafluoretileno¹⁹⁷⁻²⁰⁰ (Gore-tex, Protoplast, Teflon).

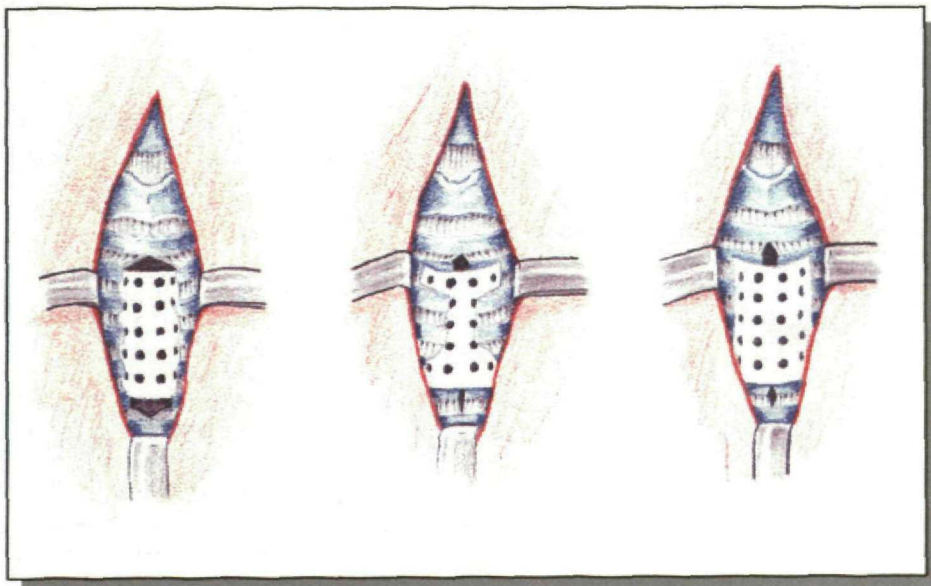


Figura 16. Prótesis interna, mixta y externa de poliláctido-glicólido.

Dentro del grupo de los polímeros vamos a mencionar dos tipos con especial repercusión clínica:

7.3.1 Siliconas

Son elastómeros basados en silicio que, como el carbón, tienen diferentes formas¹⁴⁹. Todas consisten en moléculas de silicio y oxígeno con grupos metilo (dimetilsiloxano), que se entrelazan con otros monómeros de dimetilsiloxano. Las propiedades del polímero pueden modificarse cambiando la

cantidad de uniones existentes entre las moléculas de silicona. Si estas uniones forman cadenas cortas lineales de polidimetilsiloxano (PDMS) se usan para hacer aceites y geles. La mezcla de cadenas de diferente longitud determina la viscosidad de estos aceites. Con calor y catálisis pueden llegar a ser estructuras ramificadas más largas en forma sólida. Las siliconas son resistentes a la temperatura, permaneciendo flexibles con calor o frío²⁰¹. Son inertes debido a su naturaleza hidrofóbica y su similitud al carbón.

Las siliconas utilizadas en medicina están altamente purificadas, libres de toxicidad y contaminantes. No se desintegran en el organismo debido a la resistencia de las uniones de la silicona y el oxígeno, pero sus propiedades físicas pueden alterarse por adhesión lipídica y calcificación.

Las siliconas también pueden ser gomas elásticas, sólidas, que se usan como implantes. Si esas gomas sólidas se forman de cadenas cortas de PDMS son más elásticas, como las láminas de Silastic. Si se forman de cadenas largas la goma es más viscosa y sólida.

Las gomas duras de silicona son frágiles y desprenden pequeñísimas partículas de silicona en el tejido que rodea al implante. También los electrolitos, albúmina, fibrinógeno e inmunoglobulinas pueden adherirse a su superficie. La relación entre los implantes de silicona y el desarrollo de las enfermedades autoinmunes no se ha aclarado todavía²⁰².

Los implantes de silicona no son porosos, por lo que no hay crecimiento del tejido. Se forma una cápsula avascular en torno al implante, que puede contraerse, provocando la migración del implante.

7.3.2 Medpor®

El polietileno de alta densidad poroso (PHDPE) es un polímero sintético utilizado con frecuencia en la cirugía facial por su elasticidad, dureza y porosidad¹⁴⁹. Está compuesto de un polvo de polietilenos, fundidos y moldeados según se desee. A diferencia del Protoplast, Teflon y Gore-Tex carece de fluoración de los monómeros de etileno, lo que lo hace más duro y menos compresible. Pero todavía es flexible para moldearlo durante la intervención.

El polietileno poroso de alta densidad puede fundirse a temperaturas de más de 110 °C y no puede someterse al autoclave. La esterilización se realiza con gas de óxido de etileno.

Existen diversas formas de polietileno poroso de alta densidad: Porecron, Plastipore y Medpor®.

El Medpor® es altamente poroso, con más del 50% de su volumen en los poros. Tiene una densidad de 0,6 g/cm³ y el tamaño de los poros es de 100-250 µm, lo que permite el crecimiento tanto de hueso como de tejido blando. La regularidad en los poros del PHDPE en comparación a la irregularidad porosa del Protoplast aumenta la conducción fibro-ósea. Tiene un bajo rango de infección²⁰³, pero debido a su porosidad debería emplearse con precaución en la localización intraoral. La incidencia de infección se reduce al impregnar cada implante con solución antibiótica.

La reacción de cuerpo extraño que provoca el Medpor® es mínima, con una fina cápsula fibrosa y muy pocas células gigantes. Es estable, sin evidencia de reabsorción²⁰⁴. Su rechazo es raro, pero incluso su exposición total puede tratarse conservadoramente sin necesidad de extirpar el implante, con un injerto de piel o la reparación por segunda intención²⁰⁵.

El Medpor® puede usarse en forma de planchas o en bloques, que pueden esculpirse en el tiempo quirúrgico o usarse como un implante preformado¹⁴⁹.

En 1985 se empezó a utilizar en clínica, fundamentalmente para reconstrucciones máxilo-faciales postraumáticas²⁰⁶. Diversos autores nos han mostrado la tolerancia de este material para reconstruir defectos de cartílago auricular y nasal²⁰⁷⁻²¹¹.

8 Transplantes

Los transplantes traqueales homólogos representan una modalidad terapéutica útil para pacientes con estenosis traqueales de gran longitud, complejas o recurrentes, que no responden a tratamientos convencionales²¹². Heberhold²¹³, en 1979, los utilizó inicialmente para tratar estenosis traqueales en adultos.

Beigel y cols^{214,215} demostraron que la tráquea, a pesar de ser un órgano simple, está sujeto a las leyes inmunológicas igual que otros tejidos transplantados. El principal factor que interviene es el complejo mayor de histocompatibilidad²¹⁶⁻²¹⁹. Bujía y cols observaron que las células que expresaban este complejo eran reconocidas por el epitelio traqueal y las glándulas, pero el cartílago era siempre negativo. Liu y cols²¹⁹ utilizaron una solución hipertónica para eliminar estos componentes. Otros autores han usado para este fin el thimerosal²¹², el trehalose y el dimetilsulfoxido (DMSO)²²⁰, la criopreservación²²⁰⁻²²² y la irradiación^{222,223}. Liu y cols²²⁴ defienden la posibilidad de realizar alotransplantes traqueales usando injertos histocompatibles sin inmunosupresores.

La utilización de esta técnica está limitada por la revascularización del injerto traqueal³. Los transplantes libres tienen sistemáticamente necrosis y estenosis, ya que la vascularización es inadecuada para mantener la viabilidad mucosa y cartilaginosa. Cuando el implante va acompañado de un pedículo de músculo de alguna zona próxima o de peritoneo los resultados varían según la longitud de la tráquea transplantada, pero si son más de 10 anillos, los centrales presentan necrosis y reabsorción. La circulación colateral mediastínica o peritoneal no es suficiente para mantener la viabilidad cartilaginosa. Cuando se realiza la revascularización arterial directa anastomosando la arteria tiroidea superior donante con la arteria carótida huésped, sustituyendo 8 anillos traqueales se consigue viabilidad traqueal y de los tejidos circundantes. Gannon y cols²²⁵ consideran que es fundamental conservar el tejido peritraqueal para mantener la perfusión.

Hormona de crecimiento

En 1945, Li y Evans²²⁶ aislaron la hormona de crecimiento bovina y once años después Li²²⁷ consiguió la humana. En 1957, Raben²²⁸ desarrolló un método, para obtener GH purificada humana, introduciendo el tratamiento sustitutivo primero en niños y posteriormente en adultos²²⁹.

En 1964, Benson y Yalow²³⁰ introdujeron el radioinmunoanálisis (RIA). Este método fue adaptado rápidamente a la GH. En 1971, Li²³¹ consiguió determinar la secuencia de aminoácidos de esta hormona.

1 Estructura

La GH, también llamada hormona somatotropa, está formada por un conjunto de péptidos generados a partir de uno (GH-N) o varios genes de la familia GH (CS-L, CS-A, GH-V, CS-B), que están en el brazo largo del cromosoma 17. El gen GH-N es el único que se expresa en la hipófisis²³².

La GH es uno de los péptidos con efectos tróficos más potentes en el organismo^{233,234} y la forma más común, tanto a nivel hipofisario como en sangre, es la de un péptido de 22000 Dalton (figuras 17, 18), formado por 191 aminoácidos en una sola cadena en la que existen dos puentes disulfuros^{233,235}, conocida como forma 22K²³⁶. Existen otras variantes moleculares de significado fisiológico desconocido, de las que la más abundante es la llamada 20K.

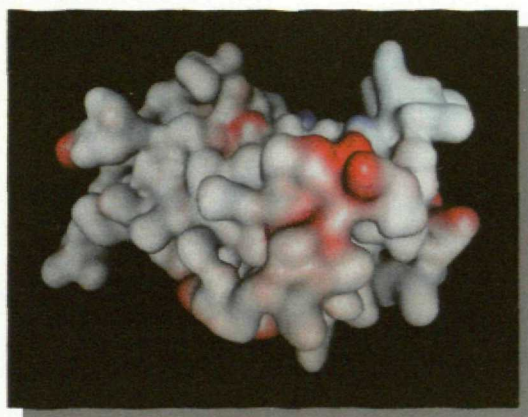


Figura 17. Representación tridimensional de la molécula de GH.

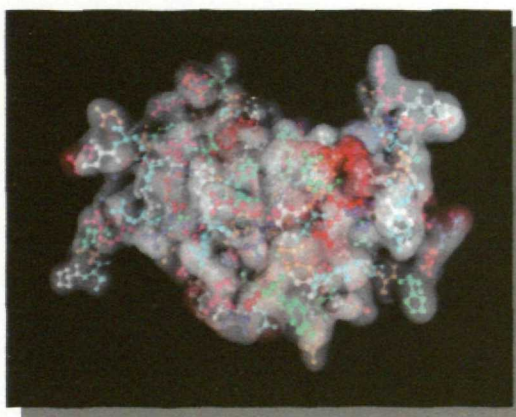


Figura 18. Representación tridimensional de la molécula de GH, con la estructura atómica.

2 Síntesis

La síntesis de GH se realiza en las células acidófilas y cromóforas de las porciones laterales de la adenohipófisis, que representan el 40-50% de las células existentes en la hipófisis^{232,235}. Durante años, su conocida resistencia a la autólisis postmortem determinó su aprovechamiento del cadáver, sin embargo, la detección de casos de encefalitis víricas, y en concreto la enfermedad de Creutzfeld-Jacob en

pacientes previamente tratados con GH obtenida mediante este método, además de la posibilidad de obtenerla mediante ingeniería genética, ha determinado que a partir de 1985 la GH que se utiliza sea de síntesis. El mecanismo para producirla consiste en introducir en bacterias *Escherichia coli*, un gen productor de GH mediante un plásmido²³⁷.

3 Control de la secreción y de la acción

En 1960, Reichlin propuso la existencia de un factor hipotalámico estimulador de la secreción de GH, que fue descubierto por River en 1982. Este péptido (GHRH) que se presenta bajo dos formas moleculares, de 40 y 44 aminoácidos, se produce a partir del precursor prepro-GHRH, cuyo gen se localiza en el cromosoma 20²³⁸.

McCan observó que en los extractos hipotalámicos también existía una fracción capaz de inhibir la liberación de GH en los cultivos hipofisarios. Brazeu consiguió aislar dicho factor al que denominó somatostatina (SS) que es un péptido de 14 aminoácidos²³². La SS inhibe la liberación hipofisaria de GH, tanto la basal como la que se produce tras la estimulación con GHRH²³⁹. La mayor concentración de cuerpos neuronales productores de la SS se encuentra en el núcleo periventricular²⁴⁰. Por tanto, la secreción hipofisaria de GH depende de la actuación a nivel hipofisario de dos péptidos hipotalámicos que por la circulación portal alcanzan la hipófisis y los cuales estimulan su secreción (GHRH), o la inhiben (SS)²⁴¹. Cada episodio de secreción de GH tiene lugar tras el vertido de GHRH en la circulación portal, lo que a su vez ocurre después o a la vez que la disminución del vertido portal de SS o la disminución del tono inhibitorio de ésta sobre la célula somatotropa²³⁶.

La GH se secreta en forma de ciclos cada 3-5 horas, y según la especie varía el patrón de secreción. En las ratas, donde la secreción presenta una conformación más uniforme que en la especie humana, la GH alcanza los 400-800 ng/ml. En humanos se registran máximos diurnos, de 10 a 20 ng/ml cada 3 a 4 horas que permanecen durante unos 40 a 60 minutos y con posterioridad decrecen hasta niveles indetectables²⁴⁰. Los niveles alcanzan un máximo en la pubertad y disminuyen de forma gradual en la vejez.

En la fase del sueño profundo, que se desarrolla de media a una hora tras el comienzo del sueño es cuando se desencadena el mayor pico secretor, que alcanza los 30-40 ng/ml. Los niños que no presentan este pico secretor nocturno de GH presentan un retraso en el crecimiento. La secreción basal de GH es mayor en periodos de máxima actividad solar como en el verano, ya que la melatonina estimula la secreción de GH. Por tanto, la glándula pineal a través del sistema límbico-hipotalámico influye en dicha secreción^{235,240}.

La GH circula en sangre unida a dos proteínas de transporte (GHBP): una de baja afinidad y mayor capacidad de unión a la GH (LA-GHBP), y otra con alta afinidad y baja capacidad de unión a la GH (HA-GHBP).

Unas sustancias implicadas tanto en la secreción como en la acción de la GH son las somatomedinas (IGFs). Fueron descubiertas en 1957 por Salmon y Daughaday al encontrar que la GH no estimulaba el crecimiento del cartílago *in vitro*, salvo cuando se añadía el plasma del animal. Por tanto, el crecimiento se producía, de manera indirecta, a través del estímulo de un factor plasmático, GH dependiente, que se denominó somatomedina^{232,235}. En el plasma de personas con déficit de GH existe una disminución de la somatomedina que revierte al administrar GH exógena.

La somatomedina presenta una similitud estructural con la insulina y existe en dos formas: la IGF-I o Sm C con 70 aminoácidos en su composición, y la IGF-II o Sm-A de 67 aminoácidos. Los niveles de IGF-I son dependientes de la edad, con un incremento gradual en sus valores durante los 10-12 primeros años de la vida hasta alcanzar los del adulto. Los niveles de IGF-II parecen ser independientes de la edad y del desarrollo puberal²⁴¹. A diferencia de otras hormonas las IGFs no parecen existir de forma concentrada en ningún órgano en particular²³⁶. El hígado es el lugar principal donde se sintetiza y secreta las IGFs en respuesta a la GH, aunque también los riñones, los pulmones y el intestino son capaces de producirlas.

Existe un "feed-back" natural entre la GH y las somatomedinas, de forma especial con la IGF-I, ya que su elevación inhibe la liberación de GH. Las somatomedinas circulan en el plasma unidas a proteínas

transportadoras: en un 80% son transportadas como parte del complejo IGFBP-3 que está bajo el control directo de la GH y se une sobre todo a la IGF-I. El restante 20% es transportado por cinco proteínas IGFBP-1, IGFBP-2, IGFBP-4, IGFBP-5, IGFBP-6 que transportan fundamentalmente a la IGF-II. Estas proteínas se consideran como una reserva circulante de las IGFs y justifican su larga vida media. El principal regulador de IGFBP-3 es la propia GH, y disminuyen tras el tratamiento con GH exógena o en la acromegalia. La cantidad de somatomedina libre es inferior al 1%^{242,243}.

En los estados de desnutrición proteica, y a pesar de los niveles elevados de GH, el crecimiento está disminuido. Este fallo se debe a una disminución de las somatomedinas, o a la presencia de inhibidores de las mismas (SS) durante la desnutrición. La actividad biológica de las IGFs se recupera al iniciar la alimentación^{237,244,245}.

La IGF-I tiene una mayor actividad funcional que la IGF-II. Las somatomedinas aumentan el grosor del cartílago epifisario, prolongan el efecto de la GH, y disminuyen los niveles y la vida media de la glucosa^{237,245}.

4 Acciones biológicas

Las acciones de la GH pueden ser directas, al interactuar con las células que presentan el receptor (GHR), o indirectas, a través de las somatomedinas.

4.1 Acciones directas

El receptor GHR, que se encuentra en la superficie celular, pertenece a una amplia familia de receptores que comprende los receptores de la prolactina, eritropoyetina, interleucina-2 y factor estimulante de colonias de macrófagos y linfocitos²³⁷. Estos receptores de GH, altamente específicos, aparecen en una serie de órganos y tejidos, entre los que destacan hígado, tejido adiposo, fibroblastos y linfocitos. Tras la unión de la GH a su receptor se produce una internalización de la hormona previa a la puesta en marcha de los efectos intracelulares²³⁶.

La GH presenta una acción lipolítica que se manifiesta por una disminución de los niveles de triglicéridos y colesterol, y una oxidación de los ácidos grasos. Todo esto incrementa el índice metabólico basal y aporta la energía necesaria para la neosíntesis proteica^{232,246-248}. La obesidad disminuye la secreción de GH, y una deficiencia de GH puede contribuir al desarrollo inicial de la obesidad²⁴⁹.

La GH tiende a aumentar los depósitos de glucógeno, así como la producción hepática de hidratos de carbono, y a disminuir simultáneamente su utilización, lo cual provoca una hiperglucemia. La administración de GH provoca la aparición de un hiperinsulinismo inicial por una disminución de la sensibilidad periférica a la acción de la insulina, pero con posterioridad hay una disminución de la secreción de la misma que determina una diabetes secundaria^{250,251}.

La administración de GH aumenta la actividad de las células "natural killer", que desempeñan un papel citotóxico y modulan la respuesta inmune frente a tumores e infecciones. También se ha observado que la disminución de GH produce una disminución del tamaño del timo y de la capacidad de producción de anticuerpos por el mismo²³².

Los ratones transgénicos en los que se introduce un gen que expresa la GH bovina, presentan un incremento de peso corporal, de la altura de las vellosidades de la mucosa intestinal y de la profundidad de las criptas del intestino delgado²⁵².

La administración de GH participa en la regulación del metabolismo fosfocálcico al elevar los niveles séricos de fosfato, calcio, osteocalcina y otros marcadores de actividad osteobástica²⁵⁰.

4.2 Acciones indirectas

La GH promueve un mayor aporte de aminoácidos a los tejidos, facilita los procesos de neosíntesis proteica y disminuye los del catabolismo proteico, lo cual favorece el crecimiento somático o visceral²⁵³. Los efectos anabolizantes de la GH suceden en tejidos tan variados como hueso, cartílago, músculo, hígado y una serie de vísceras (corazón, pulmones, riñones, intestino) y glándulas (páncreas, suprarrenales), pero en el músculo y en el hígado es quizá donde alcancen mayor expresividad²³⁶.

Relacionado con este aumento de la síntesis proteica, la GH provoca un incremento de la masa muscular, y una hipertrofia cardiaca por crecimiento del ventrículo izquierdo^{250,254}.

El efecto estimulador de la GH sobre el crecimiento longitudinal del hueso está mediado a través del IGF-I producido por los condrocitos^{232,235,237,255}.

La GH es capaz de estimular la producción de estradiol por las células de la granulosa, y participa en el control y desarrollo del folículo ovárico²⁵⁶.

5 Efectos terapéuticos

La administración de GH se ha utilizado en diversas situaciones terapéuticas:

5.1 Deficiencia de GH

Puede darse aislada o asociada a panhipopituitarismo²⁵⁷. Además de un aumento en la estatura final uno de los propósitos del tratamiento es la mejora de la autoestima, de la adaptación psicológica y social y en general de la calidad de vida²⁵⁸.

5.2 No deficiencia

Se ha visto que puede ser beneficiosa en pacientes con talla baja familiar, síndrome de Turner, insuficiencia renal crónica, retraso en el crecimiento de causa intrauterina, síndrome de Noonan, y síndrome de Prader-Willi.

5.3 Condiciones catabólicas

Los pacientes con estados catabólicos graves, como cirugía, sepsis, traumatismos, quemaduras, quimioterapia y radioterapia extensiva, pierden peso y tejido adiposo, están malnutridos, hay supresión de la inmunidad, un aumento en la frecuencia de infecciones, un retraso en la cicatrización de las heridas, pérdida de músculo esquelético y debilidad muscular. La hospitalización puede ser prolongada y la

movilización limitada, por lo que aumenta la incidencia de tromboflebitis o embolismo pulmonar. Para que el paciente recupere su actividad es importante mejorar la nutrición y la síntesis proteica, aumentar la fuerza muscular, acortar el periodo de cicatrización de las heridas y prevenir las complicaciones asociadas²⁵⁸.

La administración de GH reduce la pérdida neta de proteínas, induce un equilibrio nitrogenado positivo y una ganancia de peso²⁵³.

En los pacientes que requieren una nutrición parenteral total, la GH induce un equilibrio nitrogenado positivo al mejorar la utilización de nutrientes para un incremento en la oxidación de los lípidos. Con esta hormona también se obtiene una menor pérdida de peso^{253,259,260}. En pacientes con estancia prolongada en unidades de cuidados intensivos la conservación de las proteínas se sostuvo durante varias semanas de tratamiento (GH y soporte nutricional), efecto que puede mejorar la morbilidad y acortar el tiempo de hospitalización²⁵⁸. Sin embargo, existe controversia a este respecto porque también se ha visto aumento de la mortalidad en pacientes ingresados en unidades de cuidados intensivos, tratados con GH²⁶¹.

También se ha utilizado la GH en adultos tratados con hemodiálisis por insuficiencia renal crónica y en situación estable, ya que disminuye el BUN entre un 20-25% al reducir la producción de urea y el índice de catabolismo proteico²⁶². Los resultados mejoran si se asocia la nutrición parenteral²⁵⁹. También se ha visto que la GH tiene efectos anabólicos cuando se administra a dosis terapéuticas a pacientes con insuficiencia renal aguda²⁶³. Pero el mayor riesgo de los pacientes sometidos a diálisis es la malnutrición²⁶⁴, y en pacientes malnutridos sometidos a hemodiálisis, el tratamiento con GH no produce cambios en los parámetros nutricionales y antropométricos²⁶⁵.

En los pacientes con enfermedad pulmonar crónica y malnutrición grave la GH también mejora el equilibrio nitrogenado²⁶⁶. Estos pacientes pueden tener debilidad en los músculos respiratorios y por tanto una mayor morbimortalidad²⁵⁸.

En el proceso de envejecimiento se produce un aumento de la adiposidad, un descenso de la

masa magra y una disminución de la masa y de la fuerza muscular. La reducción de los niveles de GH es la responsable de algunos de estos cambios fisiológicos por lo que se ha postulado su administración en ancianos²⁶⁷⁻²⁶⁹. Sin embargo, el tratamiento de pacientes ancianos poco nutridos puede producir efectos secundarios como edemas o hipotensión ortostática²⁷⁰.

La GH se ha utilizado en pacientes con osteoporosis, al promover el proceso de osteoformación²⁶⁷. También se ha empleado en mujeres con síndrome de ovario poliquístico y en pacientes infértiles resistentes a gonadotropinas^{256,258}.

Asimismo, se ha utilizado en el tratamiento de úlceras necróticas en los diabéticos, al disminuir la infección, la necrosis, y favorecer la aparición de tejido de granulación^{271,272}. Igualmente, como la GH reduce el tiempo de cicatrización y aumenta la resistencia de la cicatriz, se ha utilizado en el tratamiento de las fístulas o en la consolidación de las fracturas²⁵³.

En pacientes con virus de la inmunodeficiencia humana, la GH aumenta el peso corporal y el índice de masa corporal²⁷³.

En pacientes malnutridos con anorexia nerviosa la GH acelera la estabilización médica y cardiovascular y disminuye la estancia hospitalaria²⁷⁴.

En sujetos obesos la GH se emplea como tratamiento coadyuvante a regímenes de pérdida de peso, debido a su acción lipolítica que produce una disminución de la masa adiposa²⁷⁵, así como por el efecto supresor de la ureogénesis hepática, que hace que se conserven las proteínas²⁷⁶. En diabéticos tipo II obesos, la administración de GH junto con la dieta, produce ambos efectos junto con la disminución de la resistencia insulínica²⁷⁷. Por último, debido a que la GH incrementa la fuerza muscular y la capacidad para el ejercicio, se ha empleado para mejorar el rendimiento de los atletas²⁷⁸.

A nivel experimental también se estudia el papel de la GH en la mucositis inducida por radiación²⁷⁹, en la lesión intestinal producida por metotrexate²⁸⁰ y en la adaptación tras la resección intestinal masiva^{281,282}.

6 Efectos secundarios

Suelen ser leves y de fácil control. A nivel cardiovascular las más llamativas son la hipertensión y los edemas, los cuales están en relación con la retención de líquidos y sodio producida por la estimulación directa de la reabsorción tubular de sodio que se presenta tanto en la rata como en el hombre²⁵⁰. Estos efectos pueden desaparecer espontáneamente durante los dos a tres primeros meses de tratamiento, pero a veces hay que reajustar la dosis o añadir diuréticos²⁶⁸.

En el metabolismo hidrocarbonado los efectos secundarios de la GH se manifiestan por una elevación de la glucemia basal, debido a una disminución de la sensibilidad a la insulina. De todas formas, los pacientes sometidos a dosis terapéuticas de GH son capaces de revertir el efecto diabetógeno mediante el estímulo de la secreción de la insulina endógena²⁸³.

En los pacientes con acromegalia se ha descrito un incremento en la incidencia de pólipos y adenocarcinomas de colon, pero esto no se ha observado con dosis terapéuticas de GH^{284,285}.

Los efectos proliferativos de la GH han sido motivo de preocupación por sus posibles efectos sobre determinados tejidos como mama, próstata y sistema linfoide. Esta discusión no finalizada se debe fundamentalmente a la IGF-I. Cuando el tratamiento es de corta duración este problema debe ser considerado secundario.

7 Tráquea y GH

La hormona de crecimiento tiene múltiples y variados efectos en el organismo, produciendo modificaciones metabólicas importantes, encaminadas fundamentalmente al anabolismo, y promoviendo el crecimiento y la diferenciación celular de casi todos los tipos de tejidos. Con un aporte calórico y proteico adecuado, la GH incrementa la síntesis proteica, el almacenamiento de glucógeno y la movilización de grasas, al tiempo que reduce la degradación proteica y la oxidación de la glucosa.

El papel de la GH en la tráquea es poco conocido.

En los últimos años se han estudiado diferentes factores de crecimiento tisular. Uno de los primeros en aislarse fue el factor de crecimiento epidérmico (EGF)²⁸⁶. Pero, actualmente la lista es muy amplia: TGF α , TGF β , factor de crecimiento fibroblástico (FGF), factor de crecimiento derivado de plaquetas, endotelina, factor de crecimiento insulina-like, factor de necrosis tisular, interleukinas, interferones y otros muchos²⁸⁷.

La mucosa laríngea o traqueal presenta una regeneración celular continua. Cuando se produce una lesión laríngea o traqueal también se produce una regeneración a partir de la mucosa adyacente intacta. El desarrollo de una estenosis tras una afectación laringotraqueal podría estar en relación con alteraciones en el proceso de reparación. Tanto la regeneración celular normal como la reparación de las lesiones implican migración celular y mitosis. Los factores que regulan estos procesos no han sido bien establecidos²⁸⁸.

Uno de los principales problemas para el estudio de la diferenciación de las células ciliadas es la falta de un modelo de cultivo celular adecuado²⁸⁹. Con el desarrollo de las técnicas de cultivo tisular, incluyendo la utilización de matriz extracelular exógena y la posibilidad de cultivo celular en matrices porosas, diversos grupos han comprobado el mantenimiento o el desarrollo de células ciliadas en cultivos de epitelio de la vía aérea²⁹⁰⁻²⁹⁶.

Diversos autores han estudiado el papel de diferentes factores de crecimiento en la regulación de la respuesta fisiológica de las células laringotraqueales: TGF α ²⁸⁸, TGF β ²⁹⁷, EGF^{289,298-300}, factor de crecimiento derivado de las plaquetas, fibronectina, tenascina³⁰¹, factor de crecimiento del endotelio vascular (VEGF)^{302,303}, factor de crecimiento fibroblástico básico³⁰³⁻³⁰⁵.

Por último, todavía no se ha estudiado el papel de la GH sobre las células de la pared traqueal.

Material y métodos

Material y métodos

Material

1 Animales de experimentación

Para la realización de este trabajo se han utilizado ratas Wistar (*Mus norvegicus albinus*), todas ellas criadas en el animalario del Servicio de Cirugía Experimental del Hospital Universitario La Paz de Madrid. Al inicio del estudio también se utilizaron algunas ratas Long-Evan procedentes de otro estudio.

Los criterios de selección de los animales fueron:

- Buen estado general, sin patología aparente.
- Raza idéntica.
- Hembras.
- Peso entre 200 y 350 gramos.

Se rechazaron aquellos animales que murieron durante el primer día del postoperatorio.

El trabajo consta de dos partes: estudio preliminar y estudio experimental. En el estudio preliminar, donde se analizaron la técnica quirúrgica, la tolerancia de la prótesis y el tipo de prótesis, se emplearon 73 animales. En el estudio experimental, donde se evaluó la reepitelización de la prótesis, se incluyeron 46 animales. En total se rechazaron 22 animales (tabla 1).

	Nº de ejemplares
- Estudio preliminar	
Fase 1	
Manejo de la técnica	5
Tolerancia del material protésico	4
Fase 2: Estudio con distintos materiales	
Prótesis 6 mm, forma de teja	17
Prótesis 6 mm, forma cilíndrica	6
Prótesis 3 mm, forma de teja	12
Prótesis 3 mm, forma cilíndrica	29
- Estudio experimental	46
- Animales rechazados	22
- Total	141

Tabla 1. Número de animales utilizado en el estudio.

2 Material de conservación de los animales

Los animales se estabularon en jaulas de Macrolon de 1000 cc, con los accesorios adecuados (comedero, bebedero, serrín), utilizándose una dieta completa de pienso estándar de mantenimiento A-04 (PANLAB®) para aquellas ratas que no recibieron GH. Las que recibieron esta hormona tuvieron una dieta adaptada para sujetos con alto grado de estrés metabólico (Impact®). Todos los animales tuvieron libre acceso al agua y a la dieta. Las condiciones de temperatura y humedad relativa permanecieron constantes mediante sistemas de calefacción y humidificación convencionales. Se mantuvieron ciclos de luz artificial y oscuridad de 12 horas cada uno mediante temporizador.

3 Material de la prótesis

Para la sustitución traqueal se utilizó una prótesis de Medpor®, cedida por Porex Surgical Inc. Se

trata de un polietileno poroso, de 0,85 mm de grosor, cuyos poros son mayores de 100 μm , con un volumen poroso superior al 50% del total del material. Se suministró con morfología cilíndrica y unas dimensiones de 6 mm de longitud, 2,5 mm de sección anteroposterior y 3 mm de sección transversal (figura 19).



Figura 19. Prótesis de Medpor®.

Como se describe en la tabla 1 no siempre se utilizó con estas dimensiones y morfología. En el estudio preliminar se pusieron prótesis de 6 mm de longitud, con forma de teja o cilíndrica, y de 3 mm, con las mismas formas. En el estudio experimental la prótesis tenía 3 mm de longitud y forma cilíndrica.

Las prótesis se esterilizaron con gas de óxido de etileno.

4 Hormona de crecimiento

En ambos estudios se utilizó GH (Humatrope®) a una dosis de 0,5 mg/kg/d, por vía subcutánea, desde el postoperatorio inmediato.

5 Material quirúrgico

El instrumental quirúrgico para microcirugía está compuesto por una pinza curva hexagonal,

tijeras Weslott largas y portaagujas de Barraquer. Además se utilizó bisturí del nº 15, pinza, mosquito pequeño, portaagujas, tijera para cortar hilos y jeringa de insulina de 1 cc (figura 20).



Figura 20. Instrumental quirúrgico.

Como instrumentos adicionales se utilizaron, una balanza eléctrica para pesar cada rata antes de la intervención y del sacrificio, un microscopio Zeiss modelo OPML-6 y un termostato RTC-1 para conservar la temperatura del animal durante todo el proceso quirúrgico, así como una bomba de oxígeno conectada con una incubadora infantil donde permanece la rata las primeras horas del postoperatorio.

La sutura para fijar la prótesis a la tráquea fue de seda trenzada de calibre 8#0 y 45 cm de longitud, con aguja en forma de espátula (3/8 de circunferencia, 220 µm de diámetro, 6 mm de longitud). También se utilizó seda trenzada de 3#0, 90 cm de longitud con aguja cilíndrica (1/2 circunferencia, 25 mm de longitud) para fijar los distintos planos durante la intervención y, posteriormente, para coser la piel.

6 Material de anestesia y analgesia

Para anestesiarse al animal se aplicó una mezcla a base de ketamina 80 mg/kg (Ketolar® 50 mg/ml), diazepam (Valium® 5 mg/ml) y atropina (Atropina Braun® 1 mg/ml), que se inyectaba por vía parenteral (intraperitoneal).

Como analgésico en el postoperatorio inmediato se empleó buprenorfina 100 µg/kg (Buprex® 0,3 mg/ml), por vía subcutánea.

7 Material antibiótico

Para la profilaxis antibacteriana se utilizaron los siguientes antibióticos: clindamicina (Dalacín® 600 mg/4ml), en la que se sumergió la prótesis antes de colocarla en la tráquea de la rata; cefazolina (Gencefal® 500 mg/4ml) y gentamicina (Genta-Gobens® 40 mg/2ml), que se administraron por vía intramuscular a unas dosis de 40 mg/kg y 20 mg/kg, respectivamente, en el postoperatorio. También se empleó tiloxina, por vía oral, disuelta en el agua a la que tenía acceso cada animal. Como se muestra en la tabla 2 cada antibiótico se utilizó en una determinada etapa del estudio.

	Antibiótico
- Estudio preliminar	
Fase 1	
Manejo de la técnica	
Tolerancia del material protésico	Clindamicina
Fase 2. Estudio con distintos tipos de prótesis	
Prótesis 6 mm, forma de teja	Cefazolina
Prótesis 6 mm, forma cilíndrica	Cefazolina
Prótesis 3 mm, forma de teja	Tiloxina
Prótesis 3 mm. forma cilíndrica	Tiloxina
- Estudio experimental	Clindamicina-Gentamicina

Tabla 2. Antibióticos utilizados en el estudio.

8 Material para estudio histológico

Una vez sacrificado el animal se procedió a la fijación de la pieza quirúrgica en una solución de formol al 10% y se incluyó manualmente en parafina. Para teñir los cortes histológicos se utilizó hematoxilina-eosina y orceína para fibras elásticas.

9 Material fotográfico

Se utilizó una cámara Nikon FM2, con un objetivo Micro Nikkor 60 mm y película Kodak Ektachrome 100 ASA. El montaje y manipulación de las imágenes se hizo por medio del programa Adobe Photoshop 6.0.

Método

1 Diseño del estudio

El estudio corresponde a un ensayo experimental en animales. Las ratas se trataron éticamente a lo largo de todo el trabajo, siguiendo las disposiciones legales descritas en el Real Decreto 223/88, 14 de marzo. Se utilizó una prótesis de Medpor® para sustituir una porción de tráquea, dejando la pared posterior, como punto de partida de la reepitelización.

1.1 Estudio preliminar

1.1.1 Primera fase

En esta etapa se intentaron obtener conocimientos del manejo del animal y de la técnica quirúrgica. Para ello se realizaron todos los pasos necesarios para la colocación de la prótesis, pero al final la porción traqueal extraída se suturaba de nuevo, para adquirir destreza en la técnica quirúrgica.

Ya utilizando el material protésico, se procedió a colocar la prótesis de 6 mm de longitud y sección cilíndrica, a la que se practicaba una sección longitudinal vertical de unos 2 mm de ancho a la altura de la pared posterior traqueal que se conservaba, para evaluar la tolerancia de la prótesis.

1.1.2 Segunda fase

El objetivo de esta fase fue el de evaluar la tolerancia del animal en función del tipo de prótesis. Se utilizaron 4 modelos diferentes. En tres de ellos se incluyeron ratas tratadas con GH y ratas control

(con suero salino), tal y como se detalla en la tabla 3. En el cuarto modelo no se hicieron grupos con GH, porque esta hormona es cara y sólo se pretendía ver el modelo de prótesis más adecuado. Unas prótesis tenían 6 mm de longitud y otras 3 mm para valorar el efecto de la longitud de la prótesis.

	Suero salino	GH
- Prótesis de 6 mm, forma de teja	8	9
- Prótesis de 6 mm, forma cilíndrica	2	4
- Prótesis de 3 mm, forma de teja	6	6
- Prótesis de 3 mm, forma cilíndrica	26	0

Tabla 3. Número de ratas en la segunda fase del estudio preliminar.

Las variables estudiadas en cada caso fueron: el peso del animal antes y después de la intervención, las complicaciones clínicas durante el postoperatorio y las alteraciones presentes en las tráqueas intervenidas.

1.2 Estudio experimental

A la vista de los resultados obtenidos en los estudios preliminares se seleccionó la prótesis de 3 mm de longitud y sección cilíndrica para el estudio final. El objetivo era evaluar la reepitelización de la tráquea de la rata en distintos tiempos de evolución y la influencia que sobre ella tenía la utilización de GH en ese proceso. El número de animales incluido en el estudio experimental se detalla en la tabla 4.

	Suero salino	GH
- Prótesis 3 mm, forma cilíndrica	36	12

Tabla 4. Número de ratas en el estudio experimental.

El número de ratas a las que se administró GH fue menor por los resultados de la fase preliminar.

2 Técnica anestésica

La anestesia se aplicó por vía intraperitoneal en el tercio medio del abdomen, con la siguiente mezcla: ketamina 0,5 cc, diazepam 0,4 cc y atropina 0,1 cc. Se inyectaron 0,5 cc/200 gr de peso como dosis inicial y 0,2 cc como dosis de mantenimiento, con la frecuencia necesaria según el estado del animal.

3 Técnica quirúrgica

3.1 Estudio preliminar

En primer lugar se pesaba el animal y se anestesiaba mediante inyección intraperitoneal con los fármacos y a las dosis ya comentadas. Una vez completado el procedimiento anestésico se procedía a rasurar la piel de la región cervical anterior y torácica anterosuperior con una maquinilla eléctrica y se colocaba al animal en decúbito supino sobre una tabla de corcho, sujetando las extremidades con esparadrapo. Posteriormente se limpiaba con povidona yodada la zona que se iba a intervenir.

A continuación se realizaba una incisión con un bisturí del número 15, que abarcaba el cuello y la región superior del tórax, separando el plano cutáneo y muscular. Posteriormente se disecaba con un instrumento como la zona media de las glándulas salivales, que ocupan todo el campo quirúrgico, hasta llegar a la musculatura pretraqueal. Con una tijera de microcirugía se separaba dicha musculatura y se fijaba con puntos de seda a cada lado, lo que permitía ya identificar la tráquea cervical. Entonces se procedía a la disección del tejido conjuntivo, independizando la tráquea de las estructuras adyacentes y respetando siempre los nervios laríngeos recurrentes.

3.1.1 Primera fase

En la primera fase del trabajo se extrajo la porción anterior de 5 ó 6 anillos traqueales y se volvió a colocar en la misma posición, en ratas mayores, no útiles para otros estudios.

Posteriormente se comenzó a utilizar la prótesis de 6 mm de longitud (figuras 21, 22) en 4 ratas (2 de raza Long y 2 Wistar). Previamente a su colocación en el animal, la prótesis se introducía durante unos segundos en clindamicina para asegurar la asepsia del procedimiento. La prótesis se preparaba realizando una sección longitudinal y extirpando una tira de unos 2 mm de ancho para facilitar su adaptación a la pared posterior de la tráquea. Por su parte, en la tráquea del animal se eliminaban 5 ó 6 anillos, conservando la pared posterior traqueal. La sustitución del segmento traqueal por la prótesis se realizaba utilizando 3 puntos de sutura en la zona superior y 3 en la zona inferior de la prótesis. Las ratas se dejaban en observación sacrificándose a los 14, 28, 35 y 56 días.

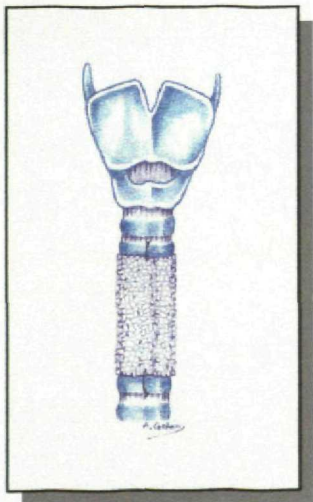


Figura 21. Visión frontal.



Figura 22. Visión lateral.

3.1.2 Segunda fase

A la vista de los resultados obtenidos en la primera fase diseñamos un nuevo procedimiento quirúrgico con ratas Wistar, en las que se implantaron prótesis de distinta morfología y dimensiones, con diferentes antibióticos, con la intención de obtener un método satisfactorio que permitiese el desarrollo del estudio experimental. Durante esta fase se crearon dos grupos de ratas para cada modelo de prótesis. A un grupo se le suministraba GH por vía subcutánea, y al otro se le inyectaba suero salino para someter a todos los animales al mismo grado de estrés. Tras la intervención, las ratas permanecían en observación, sacrificándose por grupos a los 7, 14, 21 y 28 días.

- El primer grupo incluye un total de 17 ratas. En este grupo se utilizó una prótesis de 6 mm de longitud, a la que se extirpaba una tira longitudinal de unos 2 mm, quedando en forma de teja. Para adaptar esta prótesis se realizaba una extirpación de las 4/5 partes de la circunferencia traqueal del animal, entre el 2º - 3º anillo y el 7º - 8º. La prótesis se fijaba a la tráquea con seis puntos de sutura, tres en la zona superior y tres en la inferior. Para evitar infecciones se trató a los animales con cefazolina intramuscular a dosis de 40 mg/kg (Gencefal® 500 mg/4ml) al final de la intervención. Como hemos comentado, en 9 de los 17 ejemplares se utilizó GH subcutánea durante los primeros 7 días del postoperatorio.
- El segundo grupo incluye 6 ejemplares. La prótesis utilizada en este grupo tenía una longitud de 6 mm y sección cilíndrica (figuras 23, 24).

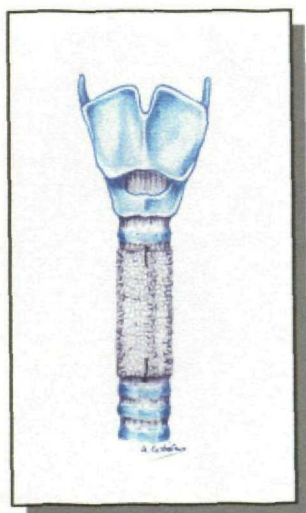


Figura 23. Visión frontal.

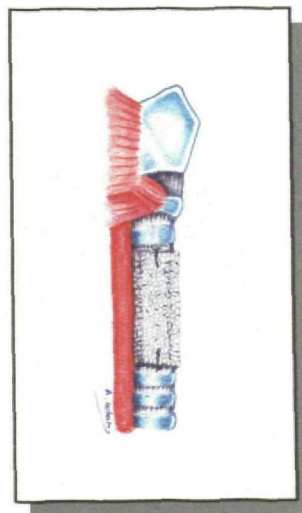


Figura 24. Visión lateral.

Para su colocación en el animal se realizaba una sección longitudinal, de menos de 1 mm, que permitía separar levemente los bordes para su colocación en el lugar dejado por el segmento traqueal extirpado. La tráquea se preparaba realizando una sección de

las 4/5 partes de la circunferencia traqueal, entre el 2º y 3º anillo y entre el 6º y 7º. La prótesis quedaba apoyada sobre los anillos superior e inferior. Se dieron tres puntos de sutura en la zona superior y tres en la inferior. Como profilaxis también utilizábamos cefazolina intramuscular tras la intervención. En 4 animales de este grupo se utilizó GH subcutánea, durante 7 días.

- En el tercer grupo, que incluye 12 ratas, la prótesis empleada tenía forma de teja y 3 mm de longitud (figuras 25, 26). Para su colocación se extirparon las 2/5 partes de 2 ó 3 anillos traqueales y se dieron cuatro puntos de sutura, uno en la zona craneal, otro en el extremo caudal y uno en cada lateral de la prótesis.

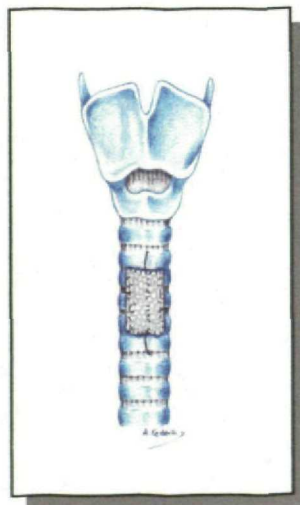


Figura 25. Visión frontal.



Figura 26. Visión lateral.

En este grupo se realizó profilaxis antibiótica con tiloxina, que se administró por vía oral diluyéndolo en el agua administrada a los animales, durante los 7 días previos a la intervención, así como los 7 primeros días del postoperatorio. En la mitad de los animales de este grupo se utilizó GH durante 7 días.

- El cuarto y último grupo de esta fase del estudio incluye 29 ratas. La prótesis que se

utilizó tenía una longitud de 3 mm y era de forma cilíndrica (figuras 27, 28). Para su colocación se extirpaba una tira longitudinal de menos de 1 mm. En el animal se realizaba una sección de las 4/5 partes de la circunferencia traqueal de dos o tres anillos traqueales. La sujeción de la prótesis se realizaba con dos puntos de sutura, uno en la zona craneal y otro en la caudal.

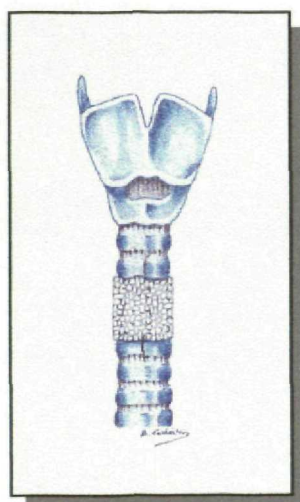


Figura 27. Visión frontal.

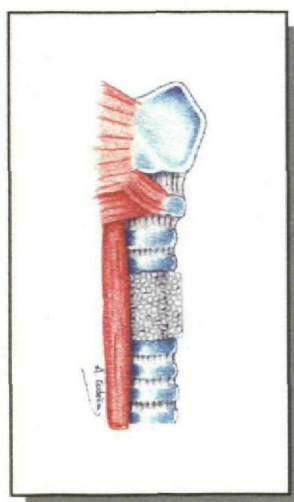


Figura 28. Visión lateral.

Al igual que en el grupo precedente, el antibiótico utilizado fue la tiloxina oral que se suministraba únicamente durante los 7 primeros días del postoperatorio. En este grupo no se utilizó GH.

3.2 Estudio experimental

Con los datos obtenidos en los estudios preliminares, decidimos utilizar para el estudio experimental una prótesis de 3 mm de longitud y sección cilíndrica, realizando una sección longitudinal (sin extraer ninguna tira). Para la profilaxis se decidió combinar la acción de dos antibióticos. Por un lado se utilizó clindamicina para impregnar la prótesis antes de su colocación y por otro gentamicina intramuscular durante los 7 primeros días del postoperatorio.

La extirpación se extiende entre el 2º y 3º anillo y el 5º y 6º en dirección cráneo-caudal (figura 29), de acuerdo a la longitud de la prótesis.

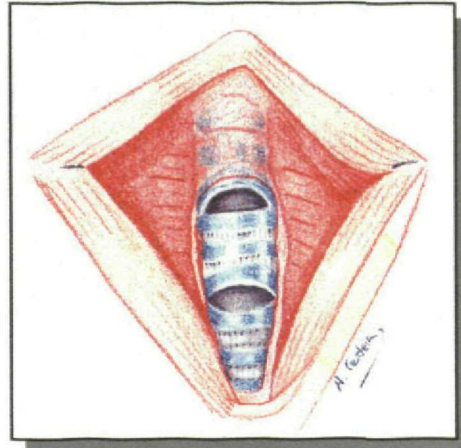
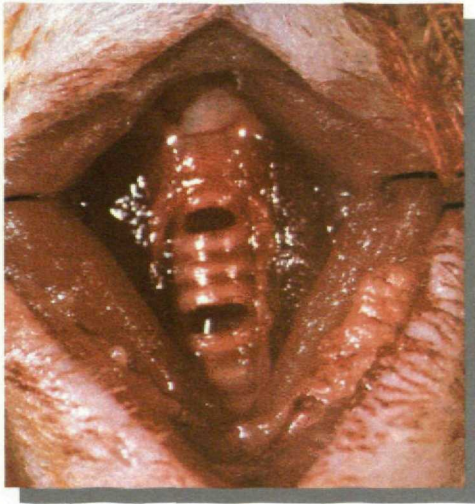


Figura 29. Sección traqueal.

La técnica quirúrgica incluía una resección de las 4/5 partes de la circunferencia traqueal dejando intacta la pared posterior de la tráquea (figura 30).

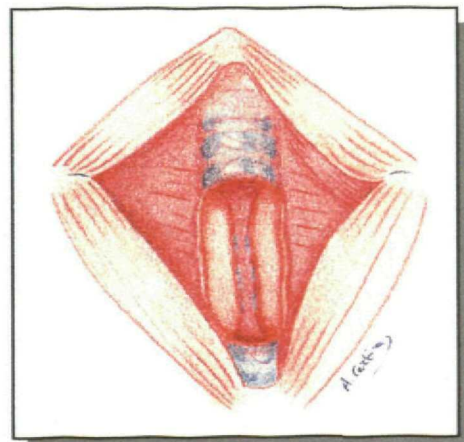
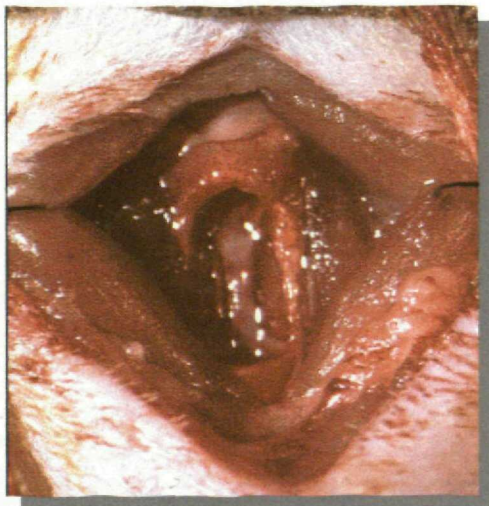


Figura 30. Extirpación de 4/5 de la circunferencia traqueal dejando la pared posterior.

La prótesis se preparaba en un campo quirúrgico aparte. Tras realizar un corte longitudinal para su adaptación a la pared posterior de la tráquea, se introducía en una solución de clindamicina hasta que quedaba impregnada del líquido. Una vez preparada, se separaban levemente los bordes de la sección realizada en la prótesis para poder introducir la pared posterior traqueal en el interior de la misma. La fijación de la prótesis a la tráquea se obtenía mediante un punto de sutura en la cara anterior de cada extremo del implante (figura 31).

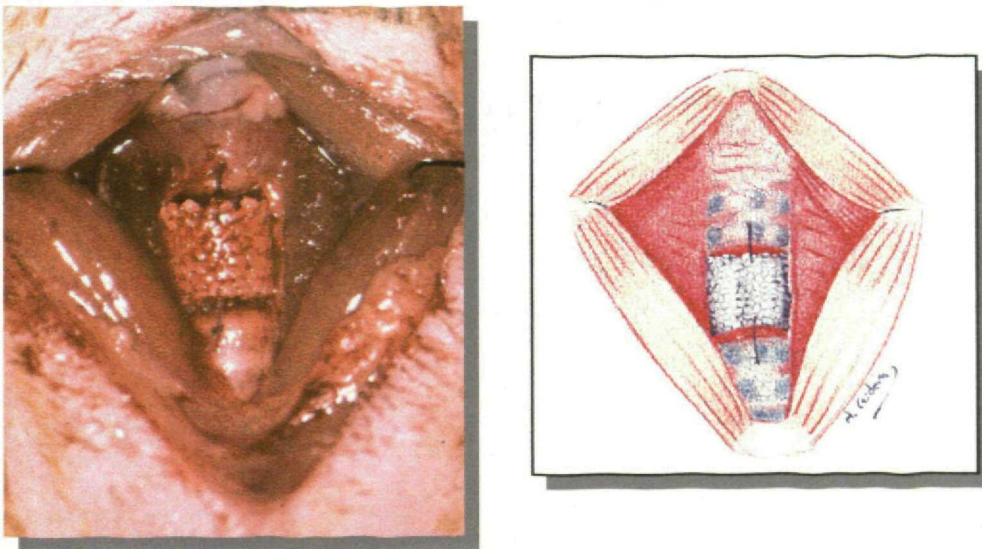


Figura 31. Prótesis fijada con dos puntos de sutura.

El estudio experimental incluyó un total de diez grupos. En cuatro de ellos se utilizó GH subcutánea, sacrificándose a los 7, 14, 21, 28 días. Cada uno de estos grupos incluía tres animales. A los otros cuatro grupos se les inyectó suero salino para someter al animal al mismo grado de estrés y se sacrificaron a los mismos tiempos. En cada uno de estos grupos se incluyeron seis ejemplares.

Además de estos 8 grupos, se incluyeron en el estudio dos grupos más con animales sometidos a observación durante un periodo de tiempo superior. En el primero de estos dos grupos de larga duración había cinco ratas que se evaluaron a los 42 días. Otros cinco ejemplares se mantuvieron en observación durante 11 meses.

4 Parámetros de evaluación

En todos los animales se estudiaron las mismas variables: el estridor presente en el postoperatorio; el peso del animal previo a la intervención y el que presentaba antes del sacrificio; y los datos fundamentales del estudio anatomopatológico: regeneración del epitelio respiratorio; estado de la submucosa; estado de la pared y de la prótesis; y valoración de los cambios inflamatorios.

Para ello se tomó como referencia la histología de la tráquea de la rata. El epitelio³⁰⁶, desde la tráquea a los segmentos bronquiales, es de tipo respiratorio pseudoestratificado con células cilíndricas ciliadas, en copa y basales, mientras en los subsegmentos bronquiales más periféricos la mayoría de las células son en copa. En el hombre aparecen los tres tipos de células hasta las porciones más distales y, ya en el pulmón, la mayoría son células en copa. Ocasionalmente se pueden encontrar células de tipo APUD en la parte alta de la vía aérea.

Las glándulas del tracto respiratorio de la rata presentan una organización tubuloacinar con elementos fundamentalmente serosos³⁰⁷.

Su lámina propia tiene prominentes fibras elásticas³⁰⁸. La túnica muscular se reduce a una capa de músculo liso con orientación transversal que se extiende entre las terminaciones abiertas del cartílago en forma de herradura.

Resultados

Resultados

1 Estudio preliminar

1.1 Primera fase

Las primeras ratas intervenidas, en las que no se utilizó ningún tipo de prótesis, sirvieron como entrenamiento para el desarrollo de la técnica quirúrgica y el conocimiento de la anatomía del cuello. Con ellas aprendimos los aspectos fundamentales del campo quirúrgico en el que se iba a desarrollar el estudio. Entre otros, cabe destacar los siguientes aspectos:

- La piel de la rata se desliza fácilmente sobre el plano muscular. Al realizar la incisión nos encontramos con las glándulas salivales que ocupan todo el campo quirúrgico cubriendo la musculatura pretraqueal.
- En la musculatura pretraqueal se distinguen dos paquetes musculares, que se separan fácilmente en la línea media. El tejido conectivo laxo que rodea la tráquea engloba los vasos y nervios laríngeos recurrentes, por lo que al disecar la tráquea debe tenerse sumo cuidado para no lesionar estas estructuras. Los cartílagos traqueales al igual que en los humanos presentan variabilidad tanto en su número como en su configuración, son anillos incompletos y aplanados que no siempre están paralelos, pues pueden unirse entre si, formando una imagen de Y acostada. En la pared posterior traqueal hay una capa de músculo liso.

De las 11 ratas intervenidas 4 sobrevivieron de 2 a 7 días, y una se mantuvo viva durante 36 días. Resultaba evidente que la colocación de la misma porción traqueal extraída les producía importantes problemas respiratorios. Nada más reponer la musculatura pretraqueal comenzaban con estridor, muriendo el 54,5% de los animales en las primeras 24 horas.

En el grupo de 5 ratas en las que ya se utilizó la prótesis uno de los animales falleció en el momento de inyectarle la anestesia. Del resto, las ratas Long se sacrificaron a los 28 y 56 días y las Wistar a los 14 y 35 días. El aspecto de las ratas era bueno, y apenas tenían estridor inspiratorio en el postoperatorio.

Macroscópicamente no se observó disminución de la luz traqueal ni tapones de moco. El estudio histológico puso de manifiesto una buena reepitelización del implante en dos ratas — el epitelio era cúbico o cilíndrico — con cilios. En la submucosa se observaba reacción inflamatoria de tipo crónico, con infiltrado linfoplasmocitario (figura 32), predominando los linfocitos en la mucosa y las células plasmáticas en la proximidad de la prótesis; y tejido de granulación, con vasos y fibroblastos. En la muestra de 35 días la prótesis estaba desplazada, contactando con la luz traqueal, y el epitelio se invaginaba hacia el interior de la prótesis (figura 33).



Figura 32. Infiltrado linfoplasmocitario.

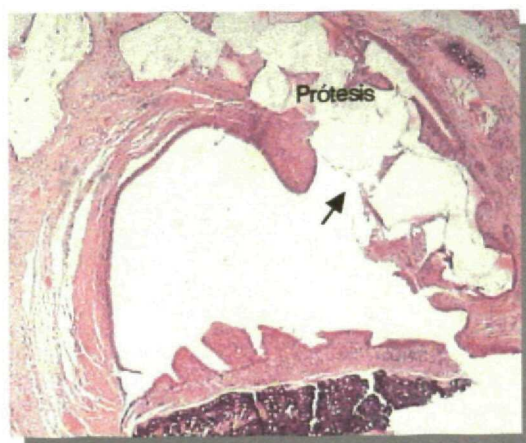


Figura 33. Prótesis desplazada.

En la muestra de 56 días había más componente fibroso que tejido de granulación. En las otras dos ratas hubo ulceración en el 100% de la superficie regenerada y necrosis (tabla 5).

	14 días	28 días	35 días	56 días
- Epitelio				
Escamoso	0/1	NV	0/1	0/1
Cúbico ciliado	0/1	NV	1/1	1/1
Ulceraciones	1/1	NV	0/1	0/1
PMN	1/1	NV	1/1	1/1
Microabscesos	0/1	NV	0/1	0/1
- Submucosa				
Infiltrado PMN	0/1	NV	0/1	0/1
Infiltrado linfoplasmocitario	1/1	NV	1/1	1/1
Tejido de granulación	1/1	NV	1/1	1/1
Fibrosis subepitelial	0/1	NV	1/1	1/1
Lipomatosis	0/1	NV	0/1	1/1
Reacción de cuerpo extraño	1/1	NV	1/1	1/1
- Luz traqueal normal	1/1	NV	1/1	0/1
- Prótesis desplazada	0/1	NV	1/1	0/1

Tabla 5. Estudio histológico, prótesis de 6 mm, forma de teja. (NV: no valorable)

1.2 Segunda fase

A la vista de los resultados histológicos obtenidos en el estudio anterior, comenzamos a desarrollar distintos modelos de prótesis, con diferentes antibióticos para averiguar cuales eran los más adecuados. Se valoraron la formación de la neopared traqueal — mucosa y submucosa — la tolerancia del material protésico y la evolución clínica.

1.2.1 Prótesis de 6 mm de longitud y forma de teja

En este primer grupo de 22 ejemplares, cinco ratas fallecieron en las primeras 24 horas del postoperatorio. De las 17 restantes 11 fallecieron antes del tiempo de sacrificio (64,7%), tres de ellas con

un importante enfisema subcutáneo y sólo 6 ratas se sacrificaron a los 7 y 28 días. Todos los animales presentaban estridor inspiratorio durante los primeros días del postoperatorio.

En las ratas que murieron antes del sacrificio se observaron macroscópicamente tapones de moco, así como disminución del calibre traqueal, que estaba más aplanado.

En las preparaciones histológicas de las tráqueas de los animales que sobrevivieron hasta el momento del sacrificio, se observó reepitelización incompleta a los 7 días, con un epitelio plano poliestratificado. Hubo ulceraciones epiteliales extensas que ocupaban el 40-50% de la superficie regenerada (figura 34) y en la submucosa reacción inflamatoria crónica ligera-moderada.

A los 28 días la reepitelización era completa con un epitelio cilíndrico parcialmente ciliado. La submucosa era más densa debajo del epitelio y más laxa en la proximidad de la prótesis.

La luz traqueal estaba reducida (figura 35), más aplanada y la prótesis podía desplazarse, llegando a contactar directamente con el neoepitelio (tabla 6).

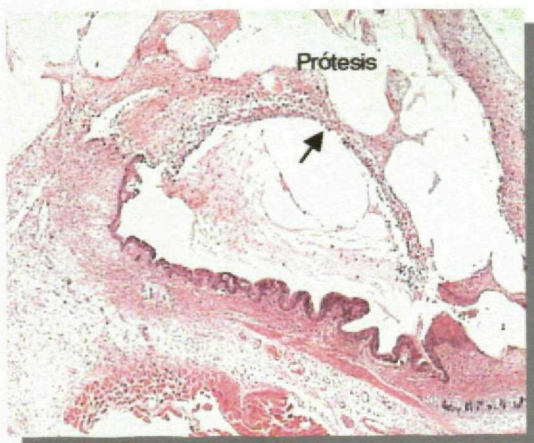


Figura 34. Mucosa ulcerada.

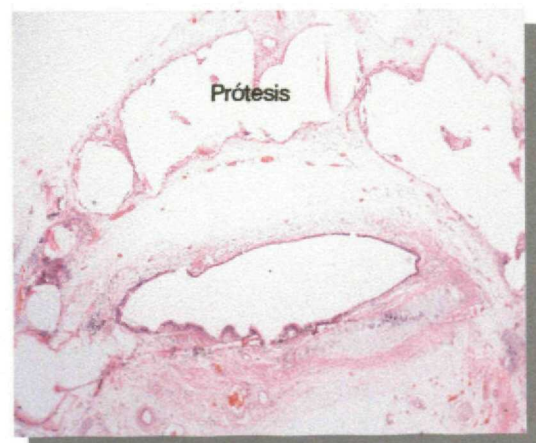


Figura 35. Disminución de la luz traqueal.

	Suero salino		GH	
	7 días	28 días	7 días	28 días
- Epitelio				
Escamoso	2/2	0/1	2/2	0/1
Cúbico ciliado	0/2	1/1	0/2	1/1
Ulceraciones	2/2	0/1	1/2	0/1
PMN	0/2	0/1	0/2	0/1
Microabscesos	0/2	0/1	0/2	0/1
- Submucosa				
Infiltrado PMN	0/2	0/1	0/2	0/1
Infiltrado linfoplasmocitario	2/2	1/1	1/2	1/1
Tejido de granulación	2/2	1/1	1/2	1/1
Fibrosis subepitelial	0/2	0/1	1/2	0/1
Lipomatosis	0/2	0/1	0/2	0/1
Reacción de cuerpo extraño	2/2	1/1	2/2	1/1
- Luz traqueal normal	1/2	0/1	1/2	0/1
- Prótesis desplazada	1/2	0/1	1/2	0/1

Tabla 6. Estudio histológico, prótesis de 6 mm, forma de teja.

1.2.2 Prótesis de 6 mm de longitud y sección cilíndrica

Con el segundo modelo de prótesis fallecieron 3 ratas en las primeras 24 horas. De las 6 restantes, 3 murieron antes del tiempo de sacrificio (50%). Dos de ellas tenían abscesos sobre la musculatura pretraqueal, y la segunda presentaba un importante enfisema. Todas tuvieron estridor inspiratorio de carácter leve durante los días siguientes a la intervención.

Las ratas que fallecieron antes del tiempo de sacrificio tenían tapones de moco en la luz traqueal, sin embargo ésta no estaba disminuida y conservaba su forma habitual.

En las preparaciones histológicas de los animales sacrificados la mucosa presentaba un epitelio cilíndrico parcialmente ciliado tanto a los 14 como a los 21 días, pero se observaban neutrofilos. En la submucosa había un infiltrado linfoplasmocitario importante, con alguna actividad aguda. El tejido

conectivo era más denso bajo el neopitelio y más laxo en zonas próximas a la prótesis (tabla 7).

La luz traqueal estaba más conservada, aunque seguía estando algo aplanada (figura 36).

	Suero salino		GH
	14 días	21 días	
- Epitelio.			
Escamoso	0/1	0/1	0/1
Cúbico ciliado	1/1	1/1	1/1
Ulceraciones	0/1	0/1	0/1
PMN	0/1	1/1	1/1
Microabscesos	0/1	0/1	0/1
- Submucosa			
Infiltrado PMN	0/1	0/1	1/1
Infiltrado linfoplasmocitario	1/1	1/1	1/1
Tejido de granulación	1/1	1/1	1/1
Fibrosis subepitelial	0/1	0/1	0/1
Lipomatosis	0/1	0/1	0/1
Reacción de cuerpo extraño	1/1	1/1	1/1
- Luz traqueal normal	1/1	1/1	1/1
- Prótesis desplazada	0/1	0/1	0/1

Tabla 7. Estudio histológico, prótesis de 6 mm, sección cilíndrica.



Figura 36. Luz traqueal aplanada.

1.2.3 Prótesis de 3 mm de longitud y forma de teja

En el tercer modelo, de las 13 ratas una falleció en las primeras 24 horas y de las 12 restantes, 3 (23,1%) murieron antes de su tiempo de sacrificio. En este grupo la situación clínica de las ratas era mejor. Aunque tras la intervención tenían leve taquipnea, ninguna de ellas presentó estridor inspiratorio. Sólo en un ejemplar se produjo enfisema subcutáneo, que fue de carácter leve, y cedió en 2 días sin necesidad de ponerle oxígeno. Tres de las ratas que completaron su periodo de observación presentaron abscesos, subcutáneo y perimusculares.

El antibiótico utilizado — la tiloxina — les produjo diarrea.

Las dos ratas que fallecieron espontáneamente presentaban tapones de moco en la luz traqueal, la cual estaba reducida.

En las preparaciones histológicas de las ratas sacrificadas a los 7 días aparecían importantes ulceraciones (figura 37) que ocupaban del 30 al 50% de la superficie regenerada, en la zona opuesta a la pared traqueal conservada. Había microabscesos ocasionales y desplazamiento de la prótesis. En el estroma de la submucosa había infiltrado linfoplasmocitario y tejido de granulación transmural. En dos muestras se veían restos de sutura afectando a la mucosa (figura 38).

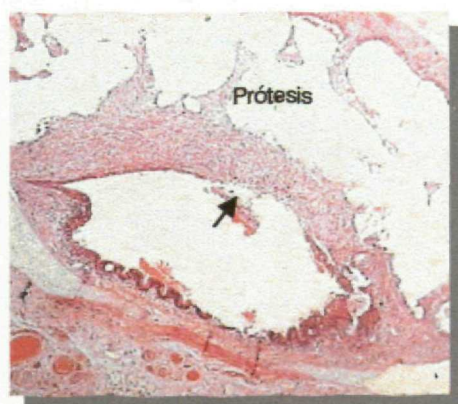


Figura 37. Mucosa ulcerada.

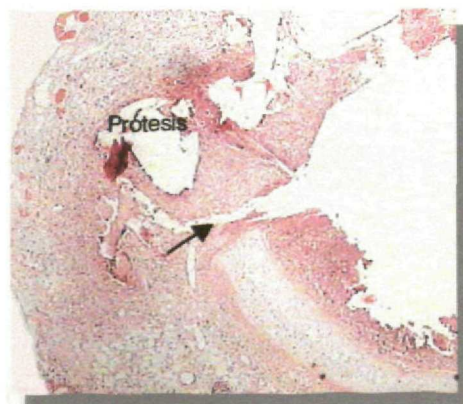


Figura 38. Fisura por sutura.

A los 14 días prácticamente toda la superficie estaba reepitelizada, con un epitelio cilíndrico o cúbico, parcialmente ciliado. Existía infiltrado inflamatorio, linfocitario en todos los casos.

La luz traqueal estaba aplanada (tabla 8).

	Suero salino		GH	
	7 días	14 días	7 días	14 días
- Epitelio				
Escamoso	2/2	0/3	2/2	0/2
Cúbico ciliado	0/2	3/3	0/2	2/2
Ulceraciones	2/2	0/3	2/2	1/2
PMN	0/2	0/3	2/2	2/2
Microabscesos	1/2	0/3	1/2	0/2
- Submucosa				
Infiltrado PMN	0/2	0/3	0/2	0/2
Infiltrado linfoplasmocitario	2/2	3/3	2/2	2/2
Tejido de granulación	2/2	3/3	2/2	2/2
Fibrosis subepitelial	0/2	0/3	0/2	0/2
Lipomatosis	0/2	0/3	0/2	0/2
Reacción de cuerpo extraño	2/2	3/3	2/2	2/2
- Luz traqueal normal	1/2	0/3	0/2	0/2
- Prótesis desplazada	1/2	0/3	0/2	0/2

Tabla 8. Estudio histológico, prótesis 3 mm, forma de teja.

1.2.4 Prótesis de 3 mm de longitud y sección cilíndrica

Con el cuarto modelo, de las 32 ratas fallecieron 3 en las primeras 24 horas y de las 29 restantes murieron otras 3 antes del tiempo de sacrificio (10,7%). Una presentó edema en la zona de las glándulas salivales.

La situación clínica de los animales fue mejor que en los grupos anteriores, ninguno presentó estridor, y sólo uno taquipnea tras la intervención. A los 7 días 3 ratas presentaron abscesos subcutáneos, en otras 2 edema en las glándulas salivales, y en 2 la musculatura pretraqueal estaba

fibrosada y fuertemente adherida a la prótesis. De las ratas sacrificadas a los 4 días, 3 presentaron leve enfisema, que no comprometió su vida.

Al igual que en el grupo anterior la tiloxina les produjo diarrea.

En las ratas fallecidas antes del tiempo de sacrificio ninguna tuvo moco en la luz traqueal, ni disminución del tamaño de ésta, no conociéndose la causa de la muerte.

Las preparaciones histológicas de las ratas sacrificadas a los 4 días estaban totalmente desestructuradas. A los 7 días había reepitelización con epitelio plano poliestratificado, con escasos cilios, pero también gran cantidad de neutrófilos, ulceraciones importantes y microabscesos. En todos los casos la submucosa presentaba infiltrado inflamatorio linfocitario, con actividad aguda.

A los 14 y 21 días no se veían ulceraciones, el epitelio era cilíndrico parcialmente ciliado, pero seguía habiendo actividad inflamatoria aguda (figura 39, 40).

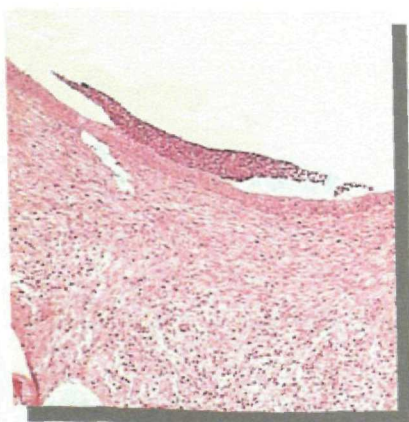


Figura 39. Placa de neutrófilos.

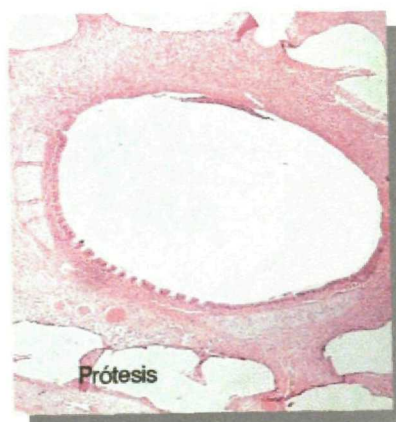


Figura 40. Luz traqueal.

En 2 ratas había desplazamiento de la prótesis, la neopared estaba destruida y el epitelio crecía entre los espacios del material. La luz traqueal conservaba su forma habitual, a veces más redondeada (tabla 9).

	7 días	14 días	21 días
- Epitelio			
Escamoso	13/14	2/6	0/2
Cúbico ciliado	1/14	4/6	2/2
Ulceraciones	4/14	0/6	0/2
PMN	14/14	6/6	1/2
Microabscesos	2/14	0/6	0/2
- Submucosa			
Infiltrado PMN	2/14	2/6	1/2
Infiltrado linfoplasmocitario	14/14	6/6	2/2
Tejido de granulación	14/14	6/6	2/2
Fibrosis subepitelial	0/14	0/6	0/2
Lipomatosis	0/14	0/6	0/2
Reacción de cuerpo extraño	14/14	6/6	2/2
- Luz traqueal normal	12/14	2/6	2/2
- Prótesis desplazada	2/14	0/6	0/2

Tabla 9. Estudio histológico, prótesis de 3 mm, forma cilíndrica.

1.2.5 Resumen

En conclusión, en la fase preliminar los grupos con prótesis de 6 mm y antibiótico intramuscular presentaban más problemas respiratorios y los grupos con prótesis de 3 mm y antibiótico oral tenían más infiltración polimorfonuclear (PMN) en la mucosa y submucosa (tabla 10).

	6 mm, teja	6 mm, cilíndrica	3 mm, teja	3 mm, cilíndrica
- Mortalidad	11/17	3/6	2/12	3/29
- Problemas respiratorios	6/6	3/3	0/10	0/26
- Enfisema leve	0/6	0/3	1/10	3/26
- Infección	0/6	0/3	3/10	3/26

Tabla 10. Morbilidad y mortalidad postoperatoria, 2ª fase del estudio preliminar.

Los grupos con prótesis en forma de teja presentaban problemas de prótesis desplazada, contactando con la mucosa y formando fisuras con crecimiento del epitelio hacia la prótesis.

En general, el epitelio era plano poliestratificado a los 7 días y a partir de los 14 días era cúbico o parcialmente ciliado, con actividad aguda según los grupos.

La submucosa presentaba infiltrado linfocitario, con mayor o menor actividad aguda. A los 7 días ya se veía que había una zona más laxa debajo de la mucosa y otra más densa en la proximidad de la prótesis.

2 Estudio experimental

A la vista de los resultados obtenidos en estos modelos se decidió utilizar una prótesis completa de 3 mm de longitud y de forma cilíndrica; y como antibióticos gentamicina intramuscular, y clindamicina para impregnar la prótesis antes de su colocación. Las ratas se sacrificaron en 6 tiempos 7, 14, 21, 28, 42 días y a los 11 meses. Los grupos sacrificados a los 7, 14, 21 y 28 días, a los que se les inyectó suero salino tenían 6 ejemplares, mientras que los tratados con GH tenían 3. A los grupos sacrificados a los 42 días y a los 11 meses sólo se les administró suero salino y tenían 5 ejemplares cada uno.

De las 49 ratas, 3 fallecieron en las primeras 24 horas y de las 46 restantes, 4 murieron antes del tiempo de sacrificio.

Tanto las ratas a las que se inyectó suero salino como aquellas a las que se administró GH presentaron una situación clínica excelente en el postoperatorio. Al finalizar la intervención quirúrgica tenían respiración abdominal, algo taquipneica, o ruidos respiratorios, pero desaparecieron en las primeras 24 horas.

Cinco de las ratas presentaron disnea moderada y estridor inspiratorio durante el postoperatorio, falleciendo sólo una antes del tiempo de sacrificio (2 días).

Seis de las ratas presentaron enfisema, de escasa cuantía, sin comprometer la vía aérea, bien

tras la intervención o al sujetar al animal para inyectarle el suero salino, la GH o el antibiótico, pero desaparecía en pocos días espontáneamente o después de colocar al animal unas horas en la incubadora con oxígeno a 4 l/min (tabla 11).

	S. salino	GH
- Mortalidad	4/34	0/12
- Problemas respiratorios	4/30	1/12
- Enfisema leve	5/30	1/12
- Infección	0/30	0/12

Tabla 11. Morbilidad y mortalidad postoperatoria. Estudio experimental.

Al realizar la disección de los distintos planos anatómicos el aspecto macroscópico era normal, no presentaban abscesos ni edema en las glándulas salivales ni en la musculatura pretraqueal. En los casos sacrificados a los 7 días, la musculatura pretraqueal estaba adherida levemente a la prótesis, pero esta situación no se observó en los animales sacrificados en otros tiempos de evolución. La luz traqueal era normal (figuras 41,42).



Figura 41. Prótesis a los 11 meses.



Figura 42. Luz traqueal a los 11 meses.

De las 4 ratas fallecidas antes del tiempo de sacrificio, una lo hizo a los seis días y medio, justo antes del sacrificio, el día anterior había presentado un episodio de asfixia al sujetarla para inyectarle el suero salino. Otra murió a los 10 días, no se averiguó el motivo, apareció muerta en su jaula y en la

disección, ni la tráquea ni el resto de órganos mostraron alteraciones. La última murió antes de las 48 horas, tuvo importante disnea, con tiraje abdominal intenso tras la intervención, mejoró con el oxígeno, pero murió finalmente al día siguiente. La rata fallecida espontáneamente a los 8 meses y otra sacrificada a los 11 meses presentaban tumoraciones mesentéricas. Macroscópicamente ninguna de las 2 tráqueas mostraban afectación.

La evolución en el peso de los animales desde antes de la intervención hasta antes del sacrificio se detalla en la tabla 12.

	7 días	14 días	21 días	28 días	42 días	11 meses
- Suero salino	-40±12,16	-18,83±17	4,4±19,24	0,5±14,86	15,6±16,56	72±27,82
- GH	-7,3±1,25	10,33±1,25	14,33±6,85	11,66±11,61		

Tabla 12. Peso de las ratas.

2.1 Estudio histológico en el grupo tratado con suero salino

En todos los animales estudiados la pared posterior traqueal estaba conservada con epitelio pseudoestratificado ciliado; en la submucosa se observaban fibras elásticas longitudinales, capa muscular, y restos del cartílago original.

A los 7 días la luz traqueal estaba prácticamente reepitelizada en su totalidad, con un epitelio plano poliestratificado (figura 43), de un espesor de 3 a 6 capas de células en el cual se observaba apoptosis (figura 44).

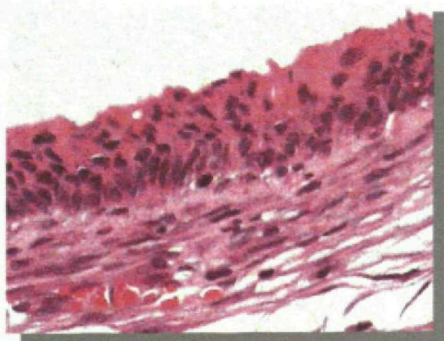


Figura 43. Epitelio.

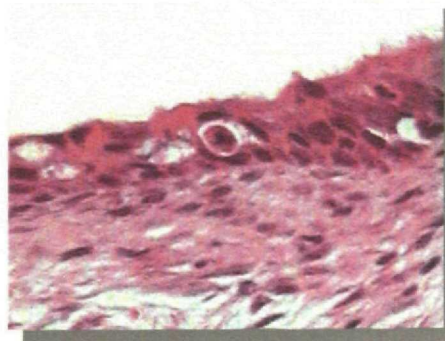


Figura 44. Apoptosis.

El tejido conectivo era muy celular, con fibroblastos, siendo más denso inmediatamente debajo del neoepitelio y más laxo en la proximidad de la prótesis, con gran vascularización (figura 45). Debajo del epitelio las fibras elásticas estaban dispuestas en sentido circular formando un anillo interrumpido por la pared posterior traqueal conservada. Se veían espacios irregulares que correspondían a la prótesis y alrededor de ellos existía reacción de cuerpo extraño (figura 46). No se veía infiltrado inflamatorio agudo a ningún nivel. La luz mantenía la forma habitual (figura 47).

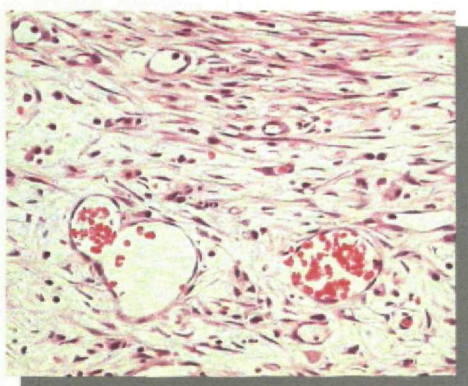


Figura 45. Vascularización.

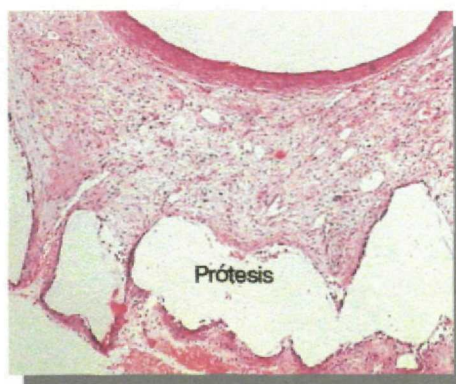


Figura 46. Prótesis.



Figura 47. Luz traqueal cilíndrica.

A los 14 días la luz traqueal estaba completamente reepitelizada con un epitelio cúbico simple, parcialmente ciliado (figura 48). Se veían células claras ciliadas intercaladas. El tejido conectivo seguía siendo muy celular, vascularizado, con fibroblastos, siendo más denso en la parte más próxima al epitelio. No se veía tejido inflamatorio. En todos estos casos la luz era amplia, de forma cilíndrica y la prótesis estaba muy próxima al epitelio (figura 49).

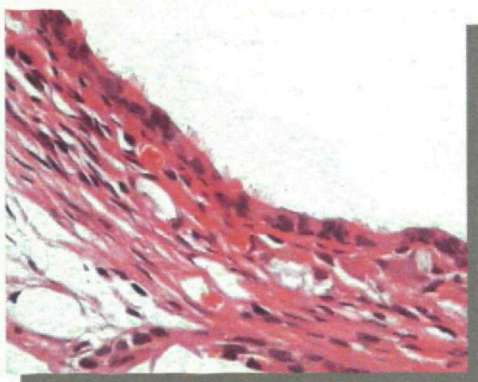


Figura 48. Epitelio.



Figura 49. Luz traqueal cilíndrica.

A los 21 días el epitelio era prácticamente igual que a los 14 días, con células cúbicas parcialmente ciliadas (figura 50), pero el estroma era más grueso (figura 51). La prótesis no estaba tan próxima al epitelio aunque la luz seguía siendo amplia.



Figura 50. Epitelio.



Figura 51. Submucosa.

A los 28 días el epitelio seguía siendo cúbico parcialmente ciliado, en general más plano que a los 21 días (figura 52). En un caso había escaso tejido inflamatorio de tipo linfoplasmocitario, por debajo de la neomucosa. La submucosa seguía siendo muy celular, pero con mayor cantidad de colágeno que en los casos previos. En dos de las muestras la forma de la luz era diferente, en una tenía forma de campana (figura 53), con el estroma más grueso en las caras laterales de la tráquea, y en otra, estaba algo deformada. En estas zonas las fibras elásticas no estaban aumentadas, el aumento del estroma se hacía a expensas de fibrosis.

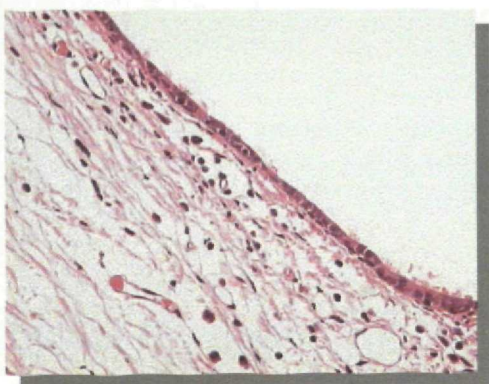


Figura 52. Epitelio.



Figura 53. Luz traqueal en forma de campana.

A los 42 días el epitelio tenía células cilíndricas, ciliadas en su mayoría, mejor en la zona más próxima al epitelio original (figura 54). Apenas existían variaciones respecto a los 28 días, el grosor del tejido conectivo submucoso era algo inferior (figura 55).



Figura 54. Epitelio.

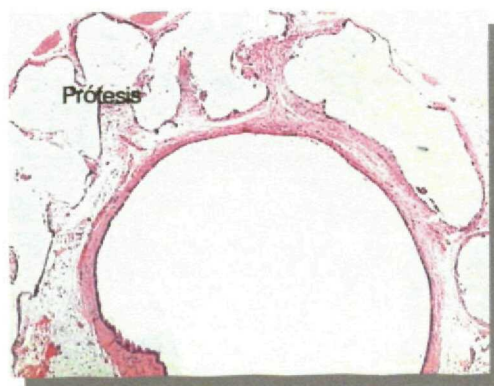


Figura 55. Submucosa y luz traqueal.

A los 11 meses el epitelio era cilíndrico ciliado, casi en su totalidad (figura 56), el tejido conectivo era hiper celular, con tejido adiposo próximo a la prótesis (figura 57). En uno de los casos había un microabsceso bajo el tejido conectivo sin afectar al epitelio ni a la submucosa que eran normales.



Figura 56. Epitelio y submucosa.



Figura 57. Luz traqueal.

La tabla 13 resume los hallazgos histológicos de estos animales.

	7 días	14 días	21 días	28 días	42 días	11 meses
- Epitelio						
Escamoso	4/4	6/6	0/5	0/6	0/5	0/4
Cúbico ciliado	0/4	0/6	5/5	6/6	5/5	4/4
Ulceraciones	0/4	0/6	0/5	0/6	0/5	0/4
PMN	0/4	0/6	0/5	0/6	0/5	0/4
Microabscesos	0/4	0/6	0/5	0/6	0/5	0/4
- Submucosa						
Infiltrado PMN	0/4	0/6	0/5	0/6	0/5	0/4
Infiltrado linfoplasmocitario	0/4	0/6	0/5	1/6	0/5	0/4
Tejido de granulación	4/4	6/6	5/5	6/6	5/5	4/4
Fibrosis subepitelial	0/4	0/6	0/5	6/6	5/5	4/4
Lipomatosis	0/4	0/6	0/5	0/6	0/5	2/4
Reacción de cuerpo extraño	4/4	6/6	5/5	6/6	5/5	4/4
- Luz traqueal normal	4/4	6/6	5/5	6/6	5/5	4/4
- Prótesis desplazada	0/4	0/6	0/5	0/6	0/5	0/4

Tabla 13. Resultado anatomopatológico. Estudio experimental, con suero salino.

En resumen el epitelio ya estaba regenerado a los 7 días, siendo de tipo plano poliestratificado. A los 14 días era de tipo cúbico, parcialmente ciliado. El tejido conectivo era muy celular, más denso debajo del epitelio y más laxo en la proximidad de la prótesis, con fibras elásticas circulares subepiteliales y tendencia al desarrollo de tejido adiposo como tejido de sostén. La reacción de cuerpo extraño en torno a la prótesis se mantenía en todo los tiempos de estudio.

2.2 Estudio histológico en el grupo tratado con GH

En las ratas de este grupo se observaba la pared posterior traqueal igual a la del resto de animales. A los 7 días la luz traqueal estaba reepitelizada con un epitelio plano poliestratificado, de espesor variable (figura 58). Se apreciaba menor grado de apoptosis que en las muestras de suero salino y que en el epitelio original. Debajo del epitelio había tejido de granulación muy rico en vasos capilares y con gran cantidad de fibroblastos. No existía una reacción inflamatoria significativa, aunque había algunos linfocitos, neutrófilos e histiocitos (figura 59). La capa submucosa era más densa debajo del epitelio y más laxa cerca de la prótesis. En la proximidad de la prótesis existía reacción de cuerpo extraño.



Figura 58. Epitelio.

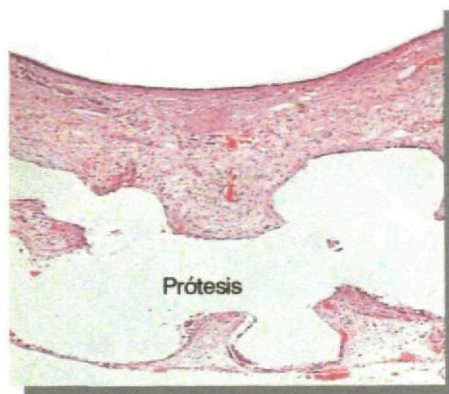


Figura 59. Submucosa.

A los 14 días la luz traqueal estaba completamente reepitelizada, había desaparecido el epitelio plano poliestratificado, se había transformado en su mayoría en un epitelio cilíndrico parcialmente ciliado (figura 60). Debajo del epitelio se veía tejido de granulación, pero la celularidad había disminuido, había

menos fibroblastos. Se veían algunos linfocitos, histiocitos y granulomas de cuerpo extraño. El espacio comprendido entre la prótesis y la luz se había ampliado, observándose tejido de granulación. Existía compartimentalización con tejido más laxo en la zona más próxima a la prótesis. En un caso se veía una leve protrusión a expensas de tejido fibroso (figura 61).

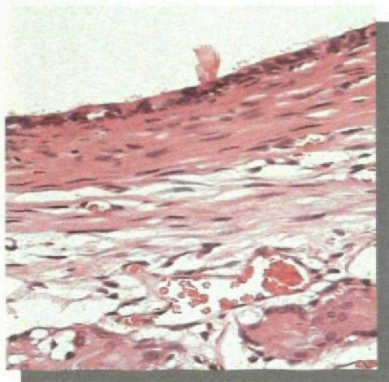


Figura 60. Epitelio.

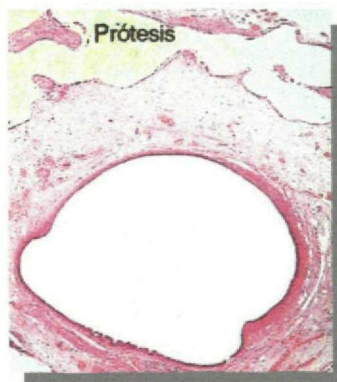


Figura 61. Leve protrusión en la luz

A los 21 días existía algún cambio en cuanto a la altura del epitelio, que seguía estando formado por células cúbicas, parcialmente ciliado, había células gigantes de cuerpo extraño justo debajo. El tejido de granulación era más patente, con mayor grado de inflamación (figura 62).

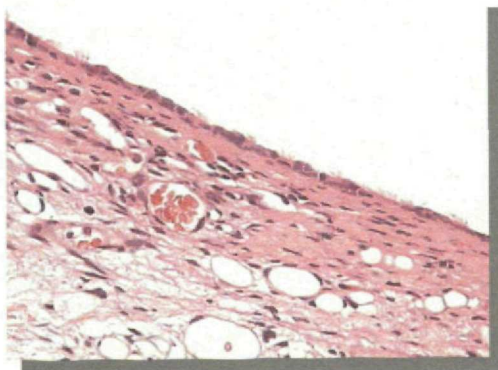


Figura 62. Epitelio y submucosa.

A los 28 días la luz se encontraba reepitelizada en su mayor parte por epitelio cúbico

parcialmente ciliado, pero el tejido conectivo estaba más organizado, con más colágeno, más matriz extracelular (figura 63). En un caso se observaba un espolón hacia la luz traqueal, a expensas de tejido fibroso (figura 64).



Figura 63. Epitelio.



Figura 64. Espolón hacia luz traqueal.

La tabla 14 resume los hallazgos histológicos en estos animales.

	7 días	14 días	21 días	28 días
- Epitelio				
Escamoso	3/3	0/3	0/3	3/3
Cúbico ciliado	0/3	3/3	3/3	0/3
Ulceraciones	0/3	0/3	0/3	0/3
PMN	0/3	0/3	0/3	0/3
Microabscesos	0/3	0/3	0/3	0/3
- Submucosa				
Infiltrado PMN	0/3	0/3	0/3	0/3
Infiltrado linfoplasmocitario	0/3	0/3	0/3	0/3
Tejido de granulación	3/3	3/3	3/3	3/3
Fibrosis subepitelial	0/3	0/3	3/3	3/3
Lipomatosis	0/3	0/3	0/3	0/3
Reacción de cuerpo extraño	3/3	3/3	3/3	3/3
- Luz traqueal normal	3/3	3/3	3/3	3/3
- Prótesis desplazada	0/3	0/3	0/3	0/3

Tabla 14. Resultado anatomopatológico. Estudio experimental, con GH.

En resumen no existían diferencias cualitativas en la regeneración del epitelio traqueal, así como en el desarrollo del tejido conectivo de la submucosa. Lo único que podemos destacar es el desarrollo de protrusiones en la proximidad de la pared posterior conservada, de tejido fibroso.

Discusión

Discusión

Discusión al método

La intención de este trabajo es utilizar una prótesis de un polietileno de alta densidad para sustituir una porción traqueal, sin donación de un injerto, en un solo tiempo quirúrgico y sin necesidad de moldes. Para ello se diseñó un estudio experimental en dos fases.

Se utilizó la rata Wistar como animal de experimentación por su disponibilidad en el animalario del Hospital Universitario La Paz y se usaron hembras por su mejor manejo, ya que suelen ser menos agresivas que los machos.

Las ratas son animales con gran resistencia a la infección y su anatomía permite un fácil acceso quirúrgico a la tráquea, la cual presenta características similares a las de la vía aérea humana.

En la primera fase del estudio preliminar, para un mejor conocimiento de la técnica quirúrgica y de la tolerancia del material protésico, se utilizaron ratas Long procedentes de otro estudio experimental. No se continuó con este tipo de ratas porque son más difíciles de criar en el animalario y tienen mayor coste.

Todas las ratas utilizadas en la distintas fases de este estudio se sometieron a las mismas condiciones ambientales. Lo que cambió fue el procedimiento quirúrgico y la alimentación. Se utilizó el suero salino para inyectar a las ratas no tratadas con GH, con la intención de someterlas al mismo grado

de estrés que al grupo tratado con GH. Las ratas inyectadas con suero salino recibieron una dieta estándar, mientras que las tratadas con GH fueron sometidas a una dieta hiperproteica. La GH favorece la síntesis proteica pero siempre y cuando tenga un sustrato para ello. El mayor inconveniente con este tipo de dieta es su consistencia líquida, por lo que requiere unos comederos especiales, y se precipita con facilidad en contacto con el aire. Todo ello hace que sea necesario cambiar diariamente el contenido del recipiente.

Se utilizó el Medpor® como material para la reconstrucción laringotraqueal por sus características físicas y basándonos en la experiencia de Portnoy¹⁹⁴, que implantó este material en la tráquea tras colocarlo previamente en la región cervical.

Cuando se ha utilizado, en la reconstrucción laringotraqueal, un material como el pericondrio, el periostio, la piel o el músculo es necesario usar un molde, que permita el mantenimiento de la luz hasta que se produzca la reconstrucción de la pared. La mayoría de las complicaciones encontradas en estos casos son secundarias a la presencia de este molde⁵¹.

Con los injertos cartilaginosos disminuye la necesidad de colocar moldes o, al menos, se reduce el tiempo en el que estos son necesarios. Sin embargo, estos injertos llevan asociados problemas de vascularización y, en muchas ocasiones requieren más de un tiempo quirúrgico, colocándolos en zonas subcutáneas o intramusculares para que puedan recubrirse con tejido de superficie antes de ser implantados en la tráquea.

Para evitar los inconvenientes de los injertos se pueden utilizar materiales artificiales, — biomateriales —. Los biomateriales deben cumplir unas características físicas necesarias para su viabilidad¹⁹². Entre ellas cabe destacar la rigidez y la resistencia para prevenir el colapso y contrarrestar la presión negativa inspiratoria y la presión positiva elevada durante el estornudo y la tos; la flexibilidad, que permita los movimientos respiratorios; y el ser herméticos para impedir la salida del aire. Asimismo, los biomateriales idóneos para la reconstrucción laringotraqueal deben reunir una serie de características químicas que les permitan integrarse en el tejido huésped sin deteriorarse por la reacción de cuerpo

extraño, y faciliten la formación de tejido de granulación y la reepitelización.

Hay biomateriales utilizados en la reconstrucción laringotraqueal que son demasiado rígidos y requieren la implantación de injertos de tejido de diferentes procedencias para no contactar directamente con la luz traqueal, como ocurre con la hidroxiapatita¹⁶⁶ y el metacrilato¹⁴⁷.

Otros materiales pueden utilizarse sin injertos y son aceptablemente bien tolerados. Este es el caso de la silicona¹⁸⁵⁻¹⁸⁷, el politetrafluoretileno¹⁹⁹, o el polietileno de alta densidad, Marlex[®] duro^{190,191}, pero no inducen una adecuada reepitelización.

Una de las principales razones que dificultan la reconstrucción de la tráquea con una prótesis es que este órgano está en contacto con el exterior¹⁸². En el proceso de reparación, el material, en función de sus características fisicoquímicas, absorbe sustancias extrañas, y al mismo tiempo persiste en el lugar implantado. Esto fenómeno puede provocar un sobrecrecimiento de tejido de granulación o incluso el rechazo de la prótesis.

Las prótesis porosas¹⁸⁴ favorecen el crecimiento rápido del tejido de reparación dentro del material, inducen la ortoepitelización de la luz traqueal, y evitan la formación de tejido de granulación redundante y la dehiscencia de la sutura en la interfase prótesis-tejido huésped.

Cuando se coloca el Medpor[®] bajo la piel se observa que permite la vascularización y el crecimiento de tejido fibroso, con un respuesta inflamatoria escasa. La cápsula que rodea el material es fina y con una reacción de cuerpo extraño ajustada al material³⁰⁹.

El diseño de la técnica quirúrgica resultó más complejo de lo pensado inicialmente y fue modificándose en función de los resultados obtenidos en las distintas fases del estudio preliminar. A la vista de los resultados obtenidos por Toledano con una prótesis no porosa¹⁸⁹, parecía que el procedimiento quirúrgico mejor tolerado era la sustitución de la porción anterior de 2 anillos traqueales. En aquel estudio se utilizó una prótesis de 2 mm de longitud y sección de 1/5 de la circunferencia traqueal. Sin embargo todos los estudios hacen pensar que los materiales porosos tienen ventajas sobre

los no porosos, lo cual nos permitió utilizar una prótesis de mayores dimensiones.

En el tratamiento de la estenosis laringotraqueal hay técnicas quirúrgicas que sólo son útiles en condiciones muy determinadas o como adyuvantes de otras. La resección traqueal y la anastomosis término-terminal es la mejor opción para el tratamiento de las estenosis circunferenciales de la tráquea. En pacientes jóvenes con ligamentos anulares elásticos se pueden resecar hasta tres anillos traqueales con esta técnica, sin necesidad de realizar maniobras de liberación. Cuando el cierre no puede realizarse sin tensión, deben añadirse otras técnicas que permitan aproximar los extremos de resección, ya que la ausencia de tensión en la sutura es esencial para el éxito del procedimiento⁴⁶.

En el caso de la laringotraqueoplastia, los injertos empleados pueden servir para la mayoría de las reparaciones⁵⁰, pero no suelen ser útiles para la reconstrucción de estenosis cicatriciales extensas. Además, en este tipo de procedimiento es obligado actuar en dos regiones, lo que puede suponer la necesidad de realizar dos intervenciones quirúrgicas.

Las limitaciones de estas técnicas han motivado el desarrollo de estudios sobre la sustitución de la tráquea por prótesis artificiales, tanto de forma experimental como clínica. Como ya se comentó antes, hay biomateriales que requieren el uso de un injerto, lo que los equipara a los materiales utilizados en la laringotraqueoplastia y no constituye ninguna ventaja sobre ellos. Si el material se puede implantar directamente, ya es posible plantear la sustitución parcial o total de un segmento traqueal sin necesidad de recurrir a más de una intervención quirúrgica.

Cuando se reparan ventanas rectangulares¹⁹⁸ puede haber desplazamiento de la prótesis y obstrucción por la presencia del material en la luz traqueal. Cuando la prótesis es cilíndrica^{198,199} puede haber reestenosis en el lugar de la anastomosis o en el centro de la prótesis. Para intentar evitar esta complicación es para lo que se conserva la pared posterior fibrosa de la tráquea o se crea un colgajo de tejido blando traqueal¹⁹¹.

En nuestro estudio no se ha entrado a valorar la utilidad de diferentes materiales de sutura ni el tipo de técnica empleada para realizar la anastomosis, por ser estos temas ampliamente tratados en la

literatura. En todos los procedimientos realizados se utilizó seda trenzada para suturar la prótesis a la tráquea, con puntos discontinuos, atravesando la pared traqueal. La seda es un material no absorbible, disponible en el servicio de cirugía experimental. La prótesis de Medpor® al ser porosa permite una fácil sutura. Otros materiales como el polietileno o el metacrilato, al ser sólidos requieren la creación de agujeros que permitan la unión.

En la anastomosis traqueal las suturas no absorbibles incrementan la posibilidad de respuesta inflamatoria y formación de granulomas³¹⁰, mientras que las absorbibles incrementan la posibilidad de separación y reestenosis³¹¹. Algunos autores han utilizado cola de fibrina o gelatina resorcina como adhesivo tisular para reforzar la línea de sutura y así reducir el riesgo de fisuras, dehiscencia, erosión de la arteria innominada o infección de la herida^{312,313}. Pero, estas sustancias también pueden provocar complicaciones por hipersensibilidad a los componentes o por contaminación con bacterias o virus.

La sutura continua tiene ventajas teóricas como la mejor distribución de la tensión en la luz traqueal, la reducción de la isquemia y el incremento de la resistencia³¹¹, aportando un sello hermético al aire y agua³¹⁴. Pero hay resultados discordantes respecto a ella. También se defiende la sutura submucosa para que el material de sutura no contacte con la luz traqueal⁴⁵.

De todas formas hay trabajos que demuestran que no hay diferencias entre varios materiales de sutura, absorbibles o no y entre diferentes técnicas de anastomosis, continua o no³¹¹.

A lo largo del estudio se han utilizado diferentes antibióticos: clindamicina, cefazolina y gentamicina. A pesar de que la rata es un animal resistente a la infección, se decidió utilizar un antibiótico por la naturaleza porosa del Medpor® y por la exposición de la tráquea al ambiente externo.

Cada vez es más frecuente la utilización de materiales extraños para su implantación temporal o permanente en el cuerpo humano³¹⁵ y con frecuencia se encuentran infecciones asociadas a su utilización³¹⁶.

La infección bacteriana de un implante puede ocurrir de dos formas, por contaminación directa en

el momento de la cirugía o por vía hematógica³¹⁷. La infección inmediata es más fácil en implantes de superficies porosas o irregulares, por el aumento de la superficie de adherencia de los polisacáridos bacterianos³¹⁸. Mientras que la infección tardía es más fácil en materiales sólidos, ya que impiden el acceso a los mediadores de la respuesta inmune.

El *Estafilococo coagulasa negativo*, especialmente el *Estafilococo epidermidis*, es el que con mayor frecuencia coloniza los biomateriales³¹⁶. Varios estudios han mostrado la adherencia bacteriana a un gran número de superficies hidrofóbicas³¹⁹⁻³²². La tensión superficial, la electronegatividad y la porosidad de los biomateriales aumentan la adhesión bacteriana^{323,324}.

Los materiales porosos son bastante fáciles de infectar experimentalmente, sin embargo cuando el crecimiento fibrovascular en los poros sucede antes de la inoculación del germen tiene lugar un incremento de la resistencia bacteriana. El tejido huésped invade el implante con capilares, fibroblastos y colágeno, reduciendo la superficie de adherencia bacteriana³²⁵.

Cuando se inoculan bacterias (*Estafilococo aureus*) en el momento de la colocación subcutánea de un implante de Medpor®, a los 7 días se detecta infección en todos los implantes, los cuales presentan una mínima fijación al tejido huésped y alrededor de ellos un exudado purulento. Sin embargo cuando el Medpor® se coloca sin inóculo bacteriano, o el inóculo se hace a los 14 días de la intervención, se observa un mayor número de células gigantes pero no aparecen PMN³²⁵.

El objetivo de las distintas actuaciones quirúrgicas sobre la tráquea es favorecer la ortoepitelización de la prótesis traqueal.

En la literatura¹⁹⁰ se defiende la ortoepitelización como llave para una reconstrucción traqueal adecuada. La falta de epitelio respiratorio y el desarrollo de estenosis en la porción central de las prótesis cilíndricas sugiere que una vez que la prótesis se cubre de dicho epitelio el proceso de reestenosis se enlentece o se detiene. La falta de dicho epitelio favorece el sobrecrecimiento del tejido de granulación. Cuando se estudia el efecto del factor de crecimiento fibroblástico y de una gota autóloga de sangre en el Medpor® implantado en localización subcutánea o subperióstica se observa que con el FGF no se acelera

el crecimiento de tejido en el interior de los poros, pero si cuando el implante se trata con la gota sanguínea³²⁶. Una mayor cantidad de tejido blando invade el material, sobre todo en el postoperatorio inicial (2 semanas). Si la GH acelera la reepitelización habrá menos posibilidad de reestenosis.

En el servicio de Cirugía Experimental del Hospital Universitario La Paz se han realizado varios estudios²⁷⁹⁻²⁸² sobre la influencia de la GH en la reparación del intestino dañado por radiación o metotrexate; o la adaptación tras resección intestinal masiva, defendiéndose la utilización de una dieta hiperproteica como substrato de dicha hormona.

Discusión de los resultados

En la primera fase del estudio preliminar todas las ratas sobrevivieron el tiempo de sacrificio y se desarrolló la neopared traqueal. Las complicaciones aparecidas a lo largo de esta fase se intentaron solucionar en la siguiente.

En la segunda fase del estudio preliminar estudiamos cuatro procedimientos quirúrgicos:

1. Prótesis en forma de teja y de 6 mm de longitud, sustituyendo las 4/5 partes de la circunferencia traqueal.
2. Prótesis de forma cilíndrica y 6 mm de longitud, dejando la pared posterior traqueal.
3. Prótesis en forma de teja y 3 mm de longitud, sustituyendo las 2/5 partes de la circunferencia traqueal.
4. Prótesis en forma cilíndrica, con 3 mm de longitud, dejando la pared posterior.

La mortalidad de los grupos implantados con prótesis de 6 mm fue superior a la de los animales a los que se les colocó una prótesis de 3 mm. Todas las ratas fallecidas antes del tiempo de sacrificio presentaron tapones de moco, salvo el último grupo, con prótesis de 3 mm y forma cilíndrica, cuya causa de muerte se desconoce. Las ratas del primer grupo —6 mm y forma de teja— presentaron un importante estridor inspiratorio, con disminución de la movilidad en el interior de la jaula. En el segundo grupo —6 mm y forma cilíndrica— a pesar de que la prótesis seguía teniendo la misma longitud el estridor fue menor. En las ratas de los grupos de 3 mm, teja o cilíndrica, ya no hubo estridor, aunque los

animales implantados con prótesis en forma de teja desarrollaron taquipnea. Por tanto, parece que la longitud de la prótesis influye en la mortalidad y en la situación clínica durante el postoperatorio. La causa de la muerte es la misma con las prótesis en forma de teja y con las cilíndricas, la dificultad en la movilización del moco, pero, a igualdad de longitud en el material implantado, las ratas están mejor con la prótesis cilíndricas.

Independientemente de su longitud, la prótesis en forma de teja tiene más posibilidades de desplazarse hacia el interior de la luz traqueal, interfiriendo en el desarrollo de la pared traqueal; o más facilidad para aplanar dicha luz. La prótesis de forma cilíndrica aunque se desplace, no tiene por qué interferir en la pared y conserva una luz más amplia.

En la primera fase del estudio preliminar se emplearon 6 puntos de sutura, mientras que en la segunda fase se fueron reduciendo hasta dejar sólo 2. Al utilizar un menor número de puntos la manipulación de la tráquea fue más sencilla y su movilidad espontánea, una vez colocada la prótesis, fue más fácil.

Las primeras ratas utilizadas se intervinieron durante casi 2 horas, por el menor conocimiento de la técnica quirúrgica y la utilización de más puntos de sutura. Aunque la prótesis quedaba más sujeta el animal presentaba mayor estridor y taquipnea.

A medida que se avanzó en el estudio preliminar, se disminuyó el tiempo de intervención —aproximadamente se tardaba 30 minutos— se utilizó un menor número de puntos, hubo menos manipulación y la tráquea se desplazaba más fácilmente, reduciéndose el estridor y la taquipnea.

A pesar de la sutura discontinua y el menor número de puntos en los últimos grupos, el desarrollo de enfisema es más frecuente y más grave en los primeros animales, por lo que se cuestiona la eficacia de un cierre hermético. Cuando la prótesis queda fija a la tráquea dificulta la movilidad de ésta al respirar, el animal tiene que hacer un esfuerzo para respirar o movilizar el moco, lo que favorece la salida de aire hacia los tejidos circundantes. Sin embargo cuando la tráquea se mueve con facilidad las presiones desarrolladas son menores. Lo comprobamos en los últimos grupos —3 mm forma de teja y

cilíndrica—en los que hay enfisemas leves cuando la rata hace esfuerzo, al querer escaparse de la sujeción para inyectarle la GH o el suero.

En la primera fase del estudio preliminar con la clindamicina impregnando la prótesis como recomienda el fabricante, la situación clínica de las ratas era buena, pero al cambiar a un antibiótico por vía sistémica (oral o IM) aparecieron signos de infección en las zonas peritraqueales, así como peor aspecto externo con disminución del brillo del pelo y mayor pérdida de peso de los animales. Cuando se realiza una intervención quirúrgica sobre la vía respiratoria humana se utiliza como profilaxis la combinación de clindamicina y gentamicina por vía sistémica. Aunque en la literatura se emplean penicilinas y cefalosporinas, en vista de los resultados decidimos utilizar los antibióticos mencionados.

En la fase preliminar del estudio se evidenció una reepitelización temprana. A los 7 días se observaba ya epitelio plano poliestratificado que iba evolucionando hasta epitelio cúbico parcialmente ciliado. Pero también se apreciaba un importante infiltrado linfoplasmocitario, así como ulceraciones, microabscesos e infiltrado de PMN, que predominaba sobre el tejido de granulación. A pesar del componente infiltrativo este tejido de granulación iba evolucionando, haciéndose más denso debajo de la mucosa y más laxo en la proximidad de la prótesis. Las ulceraciones aparecieron en las ratas sacrificadas a los 7 días, no encontrándose en las ratas sacrificadas en otros tiempos de evolución. Por lo tanto creemos que aunque el infiltrado linfoplasmocitario se mantiene, la reepitelización va progresando. En los 7 primeros días el ambiente externo contacta directamente con la prótesis y con la mucosa y submucosa en formación. A medida que pasa el tiempo la respuesta inmune va actuando y se va completando el proceso de reparación traqueal. Pero la presencia del infiltrado en todas las muestras y en todos los tiempos de sacrificio no nos permitía asegurar la buena evolución de la formación de la nueva pared traqueal. Las células inflamatorias pueden interferir en el desarrollo de la mucosa y submucosa traqueal. Los antibióticos utilizados en el estudio preliminar no eliminaron este componente inflamatorio.

En las dos fases del estudio preliminar el material protésico, polietileno de alta densidad, no se degradaba y provocaba una reacción de cuerpo extraño escasa, siempre limitada a su alrededor,

manteniéndose igual en los distintos tiempos de evolución y no interfiriendo en los cambios sufridos por las nuevas mucosa y submucosa traqueal.

En la segunda fase del estudio preliminar se empezaron a hacer grupos tratados con suero salino y grupos tratados con GH, apreciándose resultados muy similares, tanto en las complicaciones como en el desarrollo de la neopared traqueal.

En el estudio experimental la mortalidad fue inferior a la del estudio preliminar, no encontrándose tapones de moco en ninguno de los animales de esta fase. De las cuatro ratas fallecidas antes del tiempo de sacrificio, un ejemplar falleció por una complicación relacionada con su avanzada edad. El estridor mostrado por alguna de las ratas fue de carácter temporal y sólo en un caso comprometió su vida. El enfisema también fue leve, desapareció de forma gradual, y no afectó en ningún caso la supervivencia. Tampoco hubo signos de infección externa, el aspecto y la calidad de vida fue idéntico al de cualquiera de las ratas del animalario, no intervenidas, salvo la cicatriz en región anterior cervical, que a los 11 meses ya no se apreciaba, estando cubierta por el pelo del animal.

En el estudio experimental no hubo apenas alteración en el tamaño de la luz traqueal. En tres de las ratas la luz estaba deformada, pero se mantenía amplia. En la submucosa se apreciaban células inflamatorias aisladas, pero no hay ningún caso de reacción inflamatoria aguda. No se apreció estenosis ni central ni en la anastomosis en ningún animal. En los casos tratados con GH, la luz traqueal también era amplia, incluso en los casos con protrusiones en las paredes laterales de la tráquea. La prótesis no se desplazó en ningún caso, ni se produjo dehiscencia de sutura.

La epitelización de la prótesis se produce en los 7 primeros días a expensas de epitelio plano poliestratificado de tipo escamoso, con mayor número de capas cerca de la porción traqueal conservada. A los 14 días el epitelio es cúbico simple, con presencia parcial de células ciliadas. A partir de ese tiempo de evolución el epitelio se va haciendo más ciliado.

Con respecto a la submucosa, a los 7 días presenta un gran número de vasos y células — fibroblastos — con reacción de cuerpo extraño en torno a la prótesis y a la sutura. A los 14 días seguía

teniendo mucha actividad celular, pero ya se definían dos zonas, una inmediatamente inferior a la mucosa, más densa, y otra más próxima a la prótesis, más laxa.

A medida que avanza el tiempo — a los 21 y 28 días — el tejido conectivo va remodelándose, adquiriendo mayor densidad. A los 11 meses la neopared está constituida por tejido conectivo rico en fibras elásticas y tejido adiposo.

Cuando se revisan los distintos trabajos relacionados con la utilización de prótesis en la reconstrucción laringotraqueal se tiene la impresión de que da miedo utilizar un biomaterial que contacte de forma directa con la luz traqueal. Algunos se plantean la utilización del material protésico como soporte externo de un injerto, como ocurre con anillos de cerámica¹⁶⁷ o metal¹⁷², con la idea de aportar rigidez y evitar la inclusión de un molde en el postoperatorio. Otros se plantean el material como sustituto de la pared cartilaginosa, pero colocan un injerto en su interior para que el material no contacte con la luz¹⁷³. Incluso se estudia la utilización de materiales reabsorbibles con el fin de aportar rigidez en la primeras fases del remodelamiento de la neopared, intentando que el material actúe como molde externo hasta su reabsorción. La mayor parte de los autores estudian la tolerancia del material para que permita la reconstrucción del esqueleto laringotraqueal y evitar la reestenosis, considerando que el contacto de la luz con el material favorece la perpetuación del problema^{176,177}.

Otros autores comparan diferentes procedimientos quirúrgicos con prótesis porosas y sólidas, para estudiar el desarrollo del epitelio respiratorio, evitar la formación de granulaciones y la reestenosis. Comparan la reparación de ventanas anteriores y de defectos circunferenciales, lo hacen en dos estadios, colocando la prótesis primero a nivel subcutáneo¹⁸⁰, o la revisten con tejido conectivo denso en el mismo momento de la intervención¹⁴⁷. Sólo con politetrafluoretileno se sustituyeron defectos anteriores o circunferenciales sin injerto¹⁹⁸.

Otros tienen claro la utilización de una prótesis porosa en forma cilíndrica pero la conjugan con colágeno para favorecer la reepitalización y le añaden espirales de otro material para aportar rigidez^{183,184}.

Con el Medpor[®] se han hecho otros dos trabajos. Uno con la prótesis en forma de U¹⁹⁵ y otro

utilizando una prótesis en forma de elipse¹⁹⁶. En el primero la prótesis se colocaba directamente sustituyendo 6-8 anillos traqueales, y en el segundo se vuelve a hacer la comparación con la interposición de un pedículo muscular, sustituyendo la porción anterior del cricoides y tres anillos traqueales.

En nuestro trabajo se ha seguido un método de trabajo evolutivo. En primer lugar se quiso conocer la tolerancia del material, pues cuando se diseñó este trabajo el único estudio sobre el Medpor[®] era el de Portnoy¹⁹⁴, que no lo colocaba directamente en la tráquea. En segundo lugar se valoró el procedimiento quirúrgico más adecuado, para estudiar las complicaciones que aparecían con cada uno y buscar posibles soluciones. En tercer lugar se quiso averiguar si la administración de GH favorecía el desarrollo del epitelio respiratorio.

Queríamos demostrar que el Medpor[®] es un biomaterial que puede sustituir a la tráquea, aportando rigidez como el cartílago, y permitiendo el desarrollo de la neopared traqueal, con epitelio respiratorio que permita la movilización del moco y con una submucosa que no comprometa la luz. Hemos demostrado que este polietileno de alta densidad tiene la rigidez suficiente para permitir el remodelamiento de la pared traqueal.

Queríamos saber cuál era el procedimiento quirúrgico más adecuado para disminuir las complicaciones, permitiendo la reepitelización. Hemos demostrado que con la prótesis en forma cilíndrica sin extirpar ninguna tira se evita el posible desplazamiento de la prótesis, no siendo necesaria una fijación excesiva para poder movilizarla con los movimientos respiratorios. Dejando la pared posterior traqueal aseguramos el crecimiento de la pared en sentido circular y no desde los extremos cráneo-caudales.

En distintos trabajos se describen las complicaciones aparecidas con un método quirúrgico pero no se busca la forma de eliminarlas. En otros se comparan métodos quirúrgicos para ver cual es el que tiene menos complicaciones. Las complicaciones descritas más frecuentes son la mortalidad, el desplazamiento de la prótesis, la dehiscencia de la sutura, el sobrecrecimiento del tejido de granulación y la reestenosis, el infiltrado inflamatorio en la neopared, y la infección de la prótesis o de otras localizaciones.

En experimentos con prótesis porosas colocadas directamente en contacto con la luz —Silastic— todos los animales morían por estenosis en el lugar de la sutura. Esto se resolvía colocando una porción subterminal de Dacron¹⁸⁵. No se estudiaba la reepitelización. Con el Silastic con Dacron la neopared presenta tejido conectivo fibrocartilaginoso, sin epitelio, con intensa inflamación en algunas áreas. Con un polietileno de alta densidad poroso hay reepitelización pero también inflamación subepitelial en todos los animales tratados. En los estudios con el Medpor® en forma de U, en conejos al sustituir 6-8 anillos traqueales se observa en algún caso dislocación de la prótesis, tejido de granulación en la zona de anastomosis¹⁹⁵. Hay epitelio respiratorio con ligera atrofia y ligero infiltrado linfoplasmocitario y polimorfonuclear. Al reparar con el Medpor® defectos anteriores en forma de elipse, con o sin injerto, se observa que al no poner injerto hay más inflamación y fibrosis, aunque disminuye en los animales sacrificados a los 12 meses¹⁹⁶.

Uno de los objetivos que nos propusimos al principio era conocer la evolución del proceso de reepitelización a lo largo del tiempo. Hemos estudiado paso a paso a reepitelización de la pared viendo la evolución de la mucosa y la submucosa traqueal y la posible influencia de la GH en ese proceso. Los tiempos de evolución son similares pero con la GH hay más infiltrado inflamatorio y en algún caso protrusiones de tejido fibroso. Sin embargo se mantiene mejor el peso tras la intervención, aunque este dato tiene un valor relativo dado que no se pudo hacer estudio estadístico por la escasez de ejemplares.

En distintos trabajos que estudian la reepitelización, se habla de la competencia entre la formación del neoepitelio y el crecimiento del tejido de granulación¹⁹⁰. Si no se produce la reepitelización el tejido de granulación progresa hasta reestenotar la luz. Con una prótesis de forma cilíndrica se observa una falta de ortoepitelio en la porción central y reestenosis a ese nivel, defendiéndose que al reepitelizarse esa zona en un periodo posterior, se produce el sobrecrecimiento de la submucosa y los tapones de moco.

Nosotros no hemos encontrado interferencias entre la formación del epitelio y de la submucosa traqueal. La mucosa y la submucosa se desarrollan de forma paralela sin competencia alguna.

Parece que el molde de la reepitelización es la columna de aire interior y la prótesis de Medpor® tiene la suficiente rigidez, y a la vez la necesaria flexibilidad, para permitir el remodelamiento.

Conclusiones

Conclusiones

1. El Medpor® es un material bien tolerado para la reconstrucción traqueal por las ratas Wistar. Permite la reepitelización con un epitelio cúbico o cilíndrico parcialmente ciliado y una submucosa rica en fibroblastos y vasos que al principio está formada por tejido de granulación, que se va remodelando hasta constituir una neopared con un tejido conectivo denso rico en fibras elásticas y con tejido adiposo en la proximidad de la prótesis.
2. Una prótesis cilíndrica tiene menos probabilidades de desplazarse hacia el interior de la luz traqueal alterando la formación de la mucosa y submucosa. En ningún caso se observan estenosis traqueales significativas.
3. Se debe utilizar el menor número posible de puntos de sutura para favorecer la movilidad de la prótesis y reducir la respuesta inflamatoria.
4. La utilización de antibióticos es obligada como profilaxis de la infección.
5. La GH no acelera el proceso de reepitelización ni modifica las fases del desarrollo de la neopared traqueal.

Bibliografía

Bibliografía

- 1- Grillo HC. Tracheal reconstruction. Indications and techniques. *Arch Otolaryng* 1972; 96:31-39.
- 2- Gavilán J, Cerdeira MA, Toledano A. Surgical treatment of laryngotracheal stenosis: a review of 60 cases. *Ann Otol Rhinol Laryngol* 1998; 107:588-592.
- 3- Shaari CM, Gannon PJ, Salmeron J, Sanders I, Urken ML. Tracheal transplantation: defining the vascular territory of the canine cranial thyroid artery. *Otolaryngol Head Neck Surg* 1999; 120:180-183.
- 4- Gómez de Segura IA, Aguilera MJ, Codesal J, Codoceo R, De-Miguel E. Comparative effects of growth hormone in large and small bowel resection in the rat. *J Surg Res* 1996; 62:5-10.
- 5- McInnes MF. Tracheal stenosis: treatment by an endoscopic method. *Can Med Assoc J* 1972; 106:577-578.
- 6- Conway H, Stark RB. ACTH in plastic surgery. *Plast Reconstr Surg* 1951; 8:354-377.
- 7- Griswold ML Jr. Effects of adrenal cortical preparations on scar hypertrophy. *Plast Reconstr Surg* 1954; 13:454-461.
- 8- Cobb WB, Sudderth JF. Intralesional steroids in laryngeal stenosis. *Arch Otolaryngol* 1972; 96:52-56.
- 9- Bonchek LI. Successful treatment of postintubacion subglottic stenosis with intralesional steroid injections. *Ann Thorac Surg* 1973; 15:84-87.

- 10- Waggoner LG, Belenky WM, Clark CE. Treatment of acquired subglottic stenosis. *Ann Otol Rhinol Laryngol* 1973; 82:822-826.
- 11- Rosen G, Vered IY. Triamcinolone acetonide injection for laryngeal stenosis. *J Laryngol Otol* 1975; 89:1043-1046.
- 12- Lyons GD, Owens R, Lousteau RJ, Trail ML. Carbon dioxide laser treatment of laryngeal stenosis. *Arch Otolaryngol* 1980; 106:255-256.
- 13- Sasaki CT, Horiuchi M, Koss N. Tracheostomy-related subglottic stenosis: bacteriologic pathogenesis. *Laryngoscope* 1979; 89:857-865.
- 14- Croft CB, Zub K, Borowiecki B. Therapy of iatrogenic subglottic stenosis: a steroid/antibiotic regimen. *Laryngoscope* 1979; 89:482-489.
- 15- Supance JS. Antibiotics and steroids in the treatment of acquired subglottic stenosis. A canine model study. *Ann Otol Rhinol Laryngol* 1983; 92:377-382.
- 16- Peerless SA, Pillsbury HR 3rd, Peerless AG. Treatment of laryngeal stenosis. A conservative new approach. *Ann Otol Rhinol Laryngol* 1981; 90:512-515.
- 17- Abo M, Fujimura M, Kibe J, Kida H, Matsuda T. Beclomethasone dipropionate inhalation as a treatment for post-intubation tracheal stenosis. *Int J Clin Pract* 1999; 53:217-218.
- 18- Ossoff RH, Tucker GF Jr, Duncavage JA, Toohill RJ. Efficacy of bronchoscopic carbon dioxide laser surgery for benign strictures of the trachea. *Laryngoscope* 1985; 95:1220-1223.
- 19- Shapshay SM, Beamis JF Jr, Dumon JF. Total cervical tracheal stenosis: treatment by laser, dilation, and stenting. *Ann Otol Rhinol Laryngol* 1989; 98:890-895.
- 20- Shapshay SM, Beamis JF Jr, Hybels RL, Bohigian RK. Endoscopic treatment of subglottic and tracheal stenosis by radial laser incision and dilation. *Ann Otol Rhinol Laryngol* 1987; 96:661-664.
- 21- Fearon B, Cinnamon M. Surgical correction of subglottic stenosis of the larynx. Clinical results of the Fearon-Cotton operation. *J Otolaryngol* 1976; 5:474-485.
- 22- Simpson GT, Healy GB, McGill T, Strong MS. Benig tumors and lesions of the larynx in

- children. Surgical excision by CO₂ laser. *Ann Otol Rhinol Laryngol* 1979; 88:479-485.
- 23- Strong MS, Healy GB, Vaughan CW, Fried MP, Shapshay S. Endoscopic management of laryngeal stenosis. *Otolaryngol Clin North Am* 1979; 12:797-805.
- 24- Mayer T, Matlak ME, Dixon J, Johnson AG, McCloskey D. Experimental subglottic stenosis histopathologic and broncoscopic comparison of electrosurgical, cryosurgical and laser resection. *J Pediatric Surg* 1980; 15:944-962.
- 25- McGee KC, Nagle JW, Toohill RJ. CO₂ laser repair of subglottic and tracheal stenosis. *Otolaryngol Head Neck Surg* 1981; 89:92-95.
- 26- Dedo HH, Sooy CD. Endoscopic laser repair of posterior glottic, subglottic and tracheal stenosis by division or micro-trapdoor flap. *Laryngoscope* 1984; 94:445-448.
- 27- Duncavage JA, Piazza LS, Ossoff RH, Toohill RJ. The microtrapdoor technique for the management of laryngeal stenosis. *Laryngoscope* 1987; 97:825-828.
- 28- Werkhaven JA, Weed DT, Ossoff RH. Carbon dioxide laser serial microtrapdoor flap excision of subglottic stenosis. *Arch Otolaryngol Head Neck Surg* 1993; 119:676-679.
- 29- Beste DJ, Toohill RJ. Microtrapdoor flap repair of laryngeal and tracheal stenosis. *Ann Otol Rhinol Laryngol* 1991; 100:420-423.
- 30- Gonzalez C, van de Merwe WP, Smith M, Reinisch L. Comparison of the erbium-yttrium aluminium garnet and carbon dioxide lasers for in vitro bone and cartilage ablation. *Laryngoscope* 1990; 100:14-17.
- 31- April MM, Rebeiz EE, Aretz HT, Shapshay SM. Endoscopic holmium laser laryngotracheoplasty in animal models. *Ann Otol Rhinol Laryngol* 1991; 100:503-507.
- 32- Fong M, Clarke K, Cron C. Clinical applications of the holmium:YAG laser in disorders of the paediatric airway. *J Otolaryngol* 1999; 28:337-343.
- 33- Foglia Fernández M, González Compta X, Bravo Domínguez O, Dicenta Sousa M. Tratamiento de las estenosis laríngeas con láser. *An Otorrinolaringol Ibero Am* 2000; 27:491-500.

-
- 34- Ayache D, Wagner I, Denoyelle F, Garabédian ER. Use of the carbon dioxide for tracheobronchial pathology in children. *Eur Arch Otorhinolaryngol* 2000; 257:287-289.
- 35- Maniglia AJ. Tracheal stenosis: conservative surgery as a primary mode of management. *Otolaryngol Clin North Am* 1979; 12:877-892.
- 36- Maniglia AJ. Surgical treatment of tracheal and laryngeal stenosis. En: Johnson JT, Blitzer A, Ossoff RH, Thomas JR, eds. *Instructional Courses, Vol I*. St Louis: CV Mosby CO; 1988:331-337.
- 37- Goldman MH, Barsamian EM, Woods M, Sanders JH, Rosenkaimer SW, Schonmetzler HK. Tracheal stenosis. A method of dilation with use of fiberoptic bronchoscope. *Arch Surg* 1976; 111:554-556.
- 38- Hautmann H, Gamarra F, Pfeifer KJ, Huber RM. Fiberoptic bronchoscopic balloon dilatation in malignant tracheobronchial disease. Indications and results. *Chest* 2001; 120:43-49.
- 39- Conley JJ. Reconstruction of the subglottic air passage. *Ann Otol Rhinol Laryngol* 1953; 62:177-182.
- 40- Montgomery WW. Suprahyoid release for tracheal anastomosis. *Arch Otolaryngol* 1974; 99:255-260.
- 41- Gerwat J, Bryce DP. The management of subglottic laryngeal stenosis by resection and direct anastomosis. *Laryngoscope* 1974; 84:940-957.
- 42- Pearson FG, Cooper JD, Nelems JM, Van Nostrand AWP. Primary tracheal anastomosis after resection of cricoid cartilage with preservation of recurrent laryngeal nerves. *J Thorac Cardiovasc Surg* 1975; 70:806-816.
- 43- Grillo HC. Primary reconstruction of airway after resection of subglottic laryngeal and upper tracheal stenosis. *Ann Thorac Surg* 1982; 33:3-18.
- 44- Grillo HC, Mathisen DJ, Wain JC. Laryngotracheal resection and reconstruction for subglottic stenosis. *Ann Thorac Surg* 1992; 53:54-63.
- 45- Har-El G, Chaudry R, Shaha A, Lucente FE. Resection of tracheal stenosis with end to end anastomosis. *Ann Otol Rhinol Laryngol* 1993; 102:670-674.

-
- 46- Gavilán J, Toledano A, Cerdeira MA, Herranz J. Tracheal resection and anastomosis. *Operative Techniques Otolaryngol Head Neck Surg* 1997; 8:122-129.
 - 47- Blair E. Study of the viable intercostal pedicle graft in tracheobronchial surgery. *J Thoracic Surg* 1958; 36:869-878.
 - 48- Grafoord C, Lindgren AGH. Mucous and salivary gland tumors in the bronchi and trachea. *Acta Chir Scand* 1945; 92:481-506.
 - 49- Penton RS, Brantigan GC. The use of the viable pedicle graft for repairing extensive tracheobronchial defect. *Ann Surg* 1952; 135:709-714.
 - 50- Ross RR. Repair of the tacheal and esophageal defect by use of the pedicle graft. *Surgery* 1958; 39:654-662.
 - 51- Naficy S, Esclamado RM, Clevens RA. Reconstruction of the rabbit trachea with vascularized auricular perichondrium. *Ann Otol Rhinol Laryngol* 1996; 105:356-362.
 - 52- Hoff PT, Esclamado RM. Long-term growth of a vascularized auricular perichondrocutaneous flap in laryngotracheal reconstruction. *Otolaryngol Head Neck Surg* 1999; 120:693-697.
 - 53- Moutsouris C, Karayannakos P, Kairis M, Dontas I, Skalkeas G. Reversed free periosteal grafting of extensive tracheal defects in dogs. *J Pediatr Surg* 1999; 24:570-572.
 - 54- Hoff PT, Esclamado RM. Use of a revascularized, tubed costal myoperiosteal graft for repair of circumferencial, segmental tracheal defects. *Otolaryngol Head Neck Surg* 1999; 120:706-712.
 - 55- Poticha SM, Lewis FJ. Experimental replacement of the trachea. *J Thorac Cardiovasc Surg* 1966; 52:61-67.
 - 56- Belsey R. Resection of the intrathoracic trachea. *Br J Surg* 1950; 38:200-205.
 - 57- Meyer R. New concepts in laryngotracheal reconstruction. *Trans Am Acad Ophthalmol Otolaryngol* 1972; 76:758-765.
 - 58- Edgerton MT, Zovichian A. Reconstruction of the trachea and infraglottic larynx. *Plast Reconst Surg* 1954; 13:167-173.

-
- 59- Gordon NA, Parkash V, Narayan D, Eisen RN, Sasaki CT. The fate of the skin graft in laryngoplasty. *Laryngoscope* 1995; 105:949-957.
- 60- Olson NR. Skin grafting of the larynx. *Otolaryngol Head Neck Surg* 1991; 104:503-508.
- 61- Eliachar I, Tucker HM. Reconstruction of pediatric larynx and upper trachea with the sternohyoid rotary door flap. *Arch Otolaryngol Head Neck Surg* 1991; 117:316-320.
- 62- Chen WX, Ruan YY, Cui PC, Sun YZ. Long-term results of the sternohyoid myocutaneous rotary door flap for laryngotracheal reconstruction. *Ann Otol Rhinol Laryngol* 2002; 111:93-95.
- 63- Petroianu A, Barbosa AJ. Experimental reconstruction of anterior and circumferential defects of the cervical trachea. *Laryngoscope* 1993; 103:1259-1263.
- 64- Martinod E, Zegdi R, Zakine G, Aupecle B, Fornes P, D'Audiffret A, Chachques J, Azorin J, Carpentier A. A novel approach to tracheal replacement: the use of a aortic graft. *J Thorac Cardiovasc Surg* 2001; 122:197-198.
- 65- Carbognani P, Spaggiari L, Solli P, Corradi A, Cantoni AM, Barocelli E, Tincani G, Polvani G, Guarino A, Rusca M. Experimental tracheal transplantation using a cryopreserved aortic allograft. *Eur Surg Res* 1999; 31:210-215.
- 66- Kato R, Onuki AS, Watanabe M, Hashizume T, Kawamura M, Kikuchi K, Kobayashi K, Ishihara T. Tracheal reconstruction by esophageal interposition: an experimental study. *Ann Thorac Surg* 1990; 49:951-954.
- 67- Letang E, Sánchez-Lloret J, Gimferrer JM, Ramírez J, Vicens A. Experimental reconstruction of the canine trachea with a free revascularized small bowel graft. *Ann Thorac Surg* 1990; 49:955-958.
- 68- Costantino PD, Nuss DW, Snyderman CH, Johnson JT, Friedman CD, Narayanan K, Houston CG. Experimental tracheal replacement using a revascularized jejunal autograft with an implantable Dacron mesh tube. *Ann Otol Rhinol Laryngol* 1992; 101:807-814.
- 69- Fändrich F, Schröder DW. Experimental tracheal replacement using a revascularized ileal segment for transplantation in rats. *J Surg Res* 1995; 59:560-568.
- 70- Barker WS, Litton WB. Bladder osteogenesis aids tracheal reconstruction. *Arch Otolaryngol*

- 1973; 98:422-425.
- 71- Marshak G, Porter JH, McAdams AJ. Reconstruction of the canine trachea with urinary bladder wall. *Laryngoscope* 1973; 83:1090-1095.
- 72- Rush BF, Clifton EE. Experimental reconstruction of the trachea with bladder mucosa. *Surgery* 1956; 40:1105-1110.
- 73- McComb H. Treatment of tracheal stenosis. *Plast Reconstr Surg* 1967; 39:43-56.
- 74- Serrano A, Ortiz-Monasterio FO, Andrade-Pradillo JA. Reconstruction of the cervical trachea: a technique to obtain a permanently patent airway. *Plast Reconstr Surg* 1959; 24:333-340.
- 75- Willner A, Velez FJ. Rib-muscle pedicle flap for the repair of congenital tracheal stenosis. *Ann Otol Rhinol Laryngol* 1994; 103:601-608.
- 76- Dal T, Demirhan B. Reconstruction of tracheal defects with dehydrated human costal cartilage: an experimental study in rats. *Otolaryngol Head Neck Surg* 2000; 123:607-612.
- 77- Oue T, Kamata S, Usui N, Okuyama H, Nose K, Okada A. Histopathologic changes after tracheobronchial reconstruction with costal cartilage graft for congenital tracheal stenosis. *J Pediatr Surg* 2001; 36:329-333.
- 78- Caputo V, Consiglio V. The use of patient's own auricular cartilage to repair deficiency of the trachea wall. *J Thorac Cardiovasc Surg* 1961; 41:594-595.
- 79- Zaracostas G. An interesting case of tracheal stenosis. *Laryngoscope* 1966; 76:555-560.
- 80- Consiglio V. Auricular cartilage autoplasty in the experimental repair of the trachea. *Panminerva Med* 1969; 11:13-16.
- 81- Morgenstein KM. Composite auricular graft in laryngeal reconstruction. *Laryngoscope* 1972; 82:844-847.
- 82- Zehm S. The use of composite grafts for reconstruction of the trachea and subglottic airway. *Trans Am Acad Ophthalmol Otolaryngol* 1977; 84:934-940.
- 83- Ergin NT, Koc C, Demirhan B, Dal T. Tracheal reconstruction with vascularized cartilage flap in rabbits. *Ann Otol Rhinol Laryngol* 1998; 107:571-574.

-
- 84- Jacobs IN, Podrebarac P, Boden SD, Chen M. Graft healing in laryngotracheal reconstruction: an experimental rabbit model. *Ann Otol Rhinol Laryngol* 1999; 108:599-605.
- 85- Silva AB, Lusk RP, Muntz HR. Update on the use of auricular cartilage in laryngotracheal reconstruction. *Ann Otol Rhinol Laryngol* 2000; 109:343-347.
- 86- Delaere PR, Hardillo J, Hermans R, Van der Hof B. Prefabrication of composite tissue for improved tracheal reconstruction. *Ann Otol Rhinol Laryngol* 2001; 110:849-860.
- 87- Farkas LG, Farmer AW, McCain WG, Wilson WD. Replacement of a tracheal defect in the dog by a preformed composite graft. *Plast Reconstr Surg* 1972; 50:238-241.
- 88- Lapidot A, Sodagor R, Ratanaprashtporn S, Silverman R. Experimental repair of subglottic stenosis in piglets. "Trapdoor" thyrochondroplasty. *Arch Otolaryngol* 1968; 88:529-535.
- 89- Fearon B, Cotton R. Surgical correction of subglottic stenosis of the larynx. Preliminary report of an experimental surgical technique. *Ann Otol Rhinol Laryngol* 1972; 81:508-513.
- 90- Park AH, Forte V. Effect of harvesting autogenous laryngeal cartilage for laryngotracheal reconstruction on laryngeal growth and support. *Laryngoscope* 1999; 109:307-311.
- 91- Fraga JC, Schopf L, Forte V. Thyroid alar cartilage laryngotracheal reconstruction for severe pediatric subglottic stenosis. *J Pediatr Surg* 2001; 36:1258-1261.
- 92- Delaere PR, Ostyn F, Segers A, Vandyck W. Epiglottoplasty for reconstruction of posttraumatic laryngeal stenosis. *Ann Otol Rhinol Laryngol* 1991; 100: 447-450.
- 93- Drettner B, Lindholm CE. Experimental tracheal reconstruction with composite graft from nasal septum. *Acta Otolaryngol* 1970; 70:401-407.
- 94- Wilflingseder P. Tracheal stenosis reconstruction by means of a nasal septum graft. En: *Proc Int Cong Reconstr Surg*. Sidney: Butterworth, 1971.
- 95- Kleinsasser O. Narbenstenosen des Kehlkopfes und der trachea. *HNO* 1971; 19:294-302.
- 96- Krizek TJ, Kirchner JA. Tracheal reconstruction with an autogenous mucochondrial graft. *Plast Reconstr Surg* 1972; 50:123-130.
- 97- Furstoss JA, Toohill RJ. Composite nasal septal autografts of the trachea. *Ann Otol Rhinol*

Laryngol 1973; 82:831-837.

- 98- Toohill RJ. Panel discussion: the management of advanced laryngotracheal stenosis. Composite nasal septal graft in the management of advanced laryngotracheal stenosis. *Laryngoscope* 1981; 91:233-237.
- 99- Duncavage JA, Ossof RH, Toohill RJ. Laryngotracheal reconstruction with composite nasal septal cartilage grafts. *Ann Otol Rhinol Laryngol* 1989; 98:581-584.
- 100- Kambic V, Godina M, Zupevc A. Epithelialized microvascular iliac crest flap for reconstruction of subglottic and upper tracheal stenosis: a preliminary report. *Am J Otolaryngol* 1986; 7: 157-162.
- 101- Looper EA. The use of the hyoid bone as a stent in laryngeal stenosis. *Arch Otolaryngol* 1938; 28:106-111.
- 102- Bennett T. Laryngeal strictures. *South Med J* 1960; 53:1101-1104.
- 103- Alonso WA, Druck NS, Ogura JH. Clinical experiences in hyoid arch transposition. *Laryngoscope* 1976; 86:617-624.
- 104- Ward PH, Canalis R, Fee W, Smith G. Composite hyoid sternohyoid muscle grafts in humans. Its use in reconstruction of subglottic stenosis and the anterior tracheal wall. *Arch Otolaryngol* 1977; 103:531-534.
- 105- Alonso WA. Hyoid arch transposition. *Otolaryngol Clin North Am* 1979; 12:903-908.
- 106- Thawley SE, Ogura JH. Panel discussion: the management of advanced laryngotracheal stenosis. Use of the hyoid graft for treatment of laryngotracheal stenosis. *Laryngoscope* 1981; 91:226-232.
- 107- Keghian J, Lawson G, Orban D, Remacle M. Composite hyoid-sternohyoid interposition graft in the surgical treatment of laryngotracheal stenosis. *Eur Arch Otorhinolaryngol* 2000; 257:542-547.
- 108- Rethi A. An operation for cicatricial stenosis of the larynx. *J Laryngol Otol* 1956; 70:283-287.
- 109- Montgomery WW. Chronic subglottic stenosis. *Otolaryngol Clin North Am* 1984; 17:107-113.

-
- 110- McCaffrey TV. Management of subglottic stenosis in the adult. *Ann Otol Rhinol Laryngol* 1991; 100:90-94.
- 111- Cotton RT. Pediatric laryngotracheal stenosis. *J Pediatric Surg* 1984; 19:699-704.
- 112- Cotton RT, Myer CM 3rd. Contemporary surgical management of laryngeal stenosis in children. *Am J Otolaryngol* 1984; 5:360-368.
- 113- Cotton RT, Mortelliti AJ, Myer CM 3rd. Four-quadrant cricoid cartilage division in laryngotracheal reconstruction. *Arch Otolaryngol Head Neck Surg* 1992; 118:1023-1027.
- 114- Cotton RT, Richardson MA, Seid AB. Panel discussion: the management of advanced laryngotracheal stenosis. Management of combined advanced glottic and subglottic stenosis in infancy and childhood. *Laryngoscope* 1981; 91:221-225.
- 115- Evans JN, Todd GB. Laryngo-tracheoplasty. *J Laryngol Otol* 1974; 88:589-597.
- 116- Gates GA, Tucker JA. Sliding flap tracheoplasty. *Ann Otol Rhinol Laryngol* 1989; 98:926-929.
- 117- Tsang V, Murday A, Gillbe C, Goldstraw P. Slide tracheoplasty for congenital funnel-shaped tracheal stenosis. *Ann Thorac Surg* 1989; 48:632-635.
- 118- Grillo HC. Slide tracheoplasty for long-segment congenital tracheal stenosis. *Ann Thorac Surg* 1994; 58:613-621.
- 119- Antón-Pacheco JL, Cuadros J, Villafruela M, García G, Comas J, Berchi FJ. Tratamiento de una estenosis traqueal congénita mediante una traqueoplastia deslizada. *Arch Bronconeumol* 2000; 36:597-600.
- 120- Matúte JA, Romero M, García-Casillas MA, de Agustín JC, Marhuenda C, Berchi FJ, Vazquez J. Surgical approach to funnel-shaped congenital tracheal stenosis. *J Pediatr Surg* 2001; 36:320-323.
- 121- Grillo HC, Wright CD, Vlahakes GJ, MacGillivray TE. Management of congenital tracheal stenosis by means of slide tracheoplasty or resection and reconstruction, with long-term follow-up of growth after slide tracheoplasty. *J Thorac Cardiovasc Surg* 2002; 123:145-152.
- 122- Schmiegelow E. Stenosis of the larynx: a new method of surgical treatment. *Arch Otolaryngol*

1929; 9:473-493.

- 123- Demos NJ, Timmes JJ, Ferrante J. A method of treating benign stricture of the subglottic trachea. *Am Surg* 1969; 35:346-347.
- 124- Johnston JB, Wright JS, Hercus V. Tracheal stenosis following tracheostomy. A conservative approach to treatment. *J Thorac Cardiovasc Surg* 1967; 53:206-217.
- 125- Andersen HC. Intratracheal tube treatment of stenosis of the trachea. *Acta Otolaryngol* 1967; 224:S29-S30.
- 126- Tojo T, Iioka S, Kitamura S, Maeda M, Otsuji H, Uchida H, Mori T, Furuse K. Management of malignant tracheobronchial stenosis with metal stents and Dumon stent. *Ann Thorac Surg* 1996; 61:1074-1078.
- 127- Wassermann K, Eckel H, Michel O, Müller R. Emergency stenting of malignant obstruction of the upper airways: long-term follow-up with two types of silicone prostheses. *J Thorac Cardiovasc Surg* 1996; 112:859-66.
- 128- Vergnon JM, Costes F, Polio JC. Efficacy and tolerance of a new silicone stent for the treatment of benign stenosis. Preliminary results. *Chest* 2000; 118:422-426.
- 129- Puma F, Ragusa M, Avenia N, Urbani M, Droghetti A, Daddi N, Daddi G. The role of silicone stents in the treatment of cicatricial tracheal stenoses. *J Thorac Cardiovasc Surg* 2000; 120:1064-1069.
- 130- Schmidt B, Olze H, Borges AC, John M, Liebers U, Kaschke O, Haake K, Witt C. Endotracheal balloon dilatation stent implantation in benign stenoses. *Ann Thorac Surg* 2001; 71:1630-1634.
- 131- Duvall AJ, Bauer W. An endoscopically-introducible T-tube for tracheal stenosis. *Laryngoscope* 1977; 87:2031-2037.
- 132- Varela A, Maynar M, Irving D, Dick R, Reyes R, Rousseau H, Lopez L, Pulido-Duque JM, Letourneau JG, Castañeda-Zúñiga WR. Use of Gianturco self-expandable in the tracheobronchial tree. *Ann Thorac Surg* 1990; 49:806-809.
- 133- Rousseau H, Dahan M, Lauque D, Carré P, Didier A, Bilbao I, Herrero J, Blancjouvant F,

- Joffre F. Self-expandable prostheses in the tracheobronchial tree. *Radiology* 1993; 188:199-203.
- 134- Remacle M, Lawson G, Minet M, Mayné A, Watelet JB, Jamart J. Endoscopic treatment of tracheal stenosis using the carbon dioxide laser and the Gianturco stent: indications and results. *Laryngoscope* 1996; 106:306-312.
- 135- Vinograd I, Klin B, Brosh T, Weinberg M, Flomenblit J, Nevo Z. A new intratracheal stent made from nitinol, an alloy with "shape memory effect". *J Thorac Cardiovasc Surg* 1994; 107:1255-1261.
- 136- Song H, Shim TS, Jung GS, Lee DY, Kim TH, Parck S, Ahu YM, Kim WS. Tracheobronchial strictures: treatment with a polyurethane-covered retrievable expandable nitinol stent-initial experience. *Radiology* 1999; 213:905-912.
- 137- Ducic Y, Khalafi RS. Use of endoscopically placed expandable nitinol tracheal stents in the treatment of tracheal stenosis. *Laryngoscope* 1999; 109:1130-1133.
- 138- Arriero JM, Chiner E, Signes-Costa J. Tratamiento de la estenosis traqueal con una nueva prótesis metálica autoexpandible con "memoria de forma". *Arch Bronconeumol* 2000; 36:290.
- 139- Nicolai T, Huber RM, Reiter K, Merkenschlager A, Hautmann H, Mantel K. Metal airway stent implantation in children: follow-up of seven children. *Pediatr Pulmonol* 2001; 31:289-296.
- 140- Robey TC, Välimaa T, Murphy HS, Tõrmälä P, Mooney DJ, Weatherly RA. Use of internal bioabsorbable PLGA "finger-type" stents in a rabbit tracheal reconstruction model. *Arch Otolaryngol Head Neck Surg* 2000; 126:985-991.
- 141- Montgomery WW. Manual for care of the Montgomery silicone tracheal T-tube. *Ann Otol Rhinol Laryngol* 1980; Suppl 89:1-8.
- 142- García-Polo J, Tomás M, Ortega P. Chronic laryngo-tracheal stenosis. Diagnosis and treatment. *Otorhinolaryngol Head Neck Surg*. Amsterdam: Kugler & Ghedini Publications, 1980.
- 143- Huang C. Use of the silicone T-tube to treat tracheal stenosis or tracheal injury. *Ann Thorac Cardiovasc Surg* 2001; 7:192-196.

-
- 144- Morris DP, Malik T, Rothera MP. Combined "trache-stent": a useful option in the treatment of a complex case of subglottic stenosis. *J Laryngol Otol* 2001; 115:430-433.
- 145- McNaught RC. Surgical correction of the anterior web of the larynx. *Laryngoscope* 1950; 60:264-272.
- 146- Montgomery WW, Gamble JE. Anterior glottic stenosis. Experimental and clinical management. *Arch Otolaryngol* 1970; 92:560-567.
- 147- Har-El G, Krespi YP, Goldsher M. The combined use of muscle flaps and alloplast for tracheal reconstruction. *Arch Otolaryngol Head Neck Surg* 1989; 115:1310-1313.
- 148- Johnson JT, Myers EN. Recent advances in operative laryngoscopy. *Otolaryngol Clin North Am* 1984; 17:35-40.
- 149- Ousterhout DK, Stelnicki EJ. Plastic surgery's plastics. *Clin Plast Surg* 1996; 23:183-190.
- 150- Scales JT. Discussion on metals and synthetic materials in relation to soft tissues: tissue's reaction to synthetic materials. *Proc R Soc Med* 1953; 46:647-652.
- 151- Hench LL. Introduction to biomaterials. *An Quim Int Ed* 1997; 93:S1-S5.
- 152- Vallet-Regí M. Introduction to the world of biomaterials. *An Quim Int Ed* 1997; 93:S6-S14.
- 153- Black J. Biological performance of materials. Fundamentals of biocompatibility. Marcel Dekker Inc 1992:3-9.
- 154- Bronzino JD. The biomedical engineering handbook. CrC Press, *IEEE Press* 1995:530-533.
- 155- Frieden E. New perspectives on the essential trace elements. *J Chem Educ* 1985; 62:917-923.
- 156- Parks JB, Lakes RS. Biomaterials. An introduction. Plenum Press 1992.
- 157- Tsuruta T, Hayashi T, Katoka K, Ishihara K, Kimura Y. Biomedical applications of polymeric materials. CRC Press 1993.
- 158- Szycher M. High performance biomaterials. A comprehensive guide to medical and pharmaceutical applications. Technomic Pub Co 1991.

-
- 159- Wise DL, Trantolo DJ, Altobelli DE, Yaszemski MJ, Gresser JD, Schwatz ER. *Encyclopedic Handbook of biomaterials and Bioengineering, part A: Materials, Vol 1.* Marcel Dekker Inc 1995.
- 160- Wise DL, Trantolo DJ, Altobelli DE, Yaszemski MJ, Gresser JD, Schwatz ER. *Encyclopedic Handbook of biomaterials and Bioengineering, part B: Applications, Vol 2.* Marcel Dekker Inc 1995.
- 161- Cima LG, Ron ES. *MRS Symp Proc, Vol 252, 1992.*
- 162- Byrom D. *Biomaterials. Novel materials from biological sources.* M Stockton Press 1991.
- 163- Hench LL, Splinter RJ, Allen WC, Greenlee TK. Binding mechanism at the interface of ceramic prosthetic materials. *J Biom Mat Res* 1971; 2:117-141.
- 164- Hench LL, Wilson J. *An introduction to bioceramics. Advanced Series in Ceramics, vol 1.* World Scientific 1993.
- 165- Daniel RA Jr. The regeneration of defects of the trachea and bronchi: an experimental study. *J Thoracic Surg* 1948; 17:335-349.
- 166- Hirano M, Yoshida T, Sakaguchi S. Hydroxylapatite for laryngotracheal framework reconstruction. *Ann Otol Rhinol Laryngol* 1989; 98:713-717.
- 167- Amedee RG, Mann WJ, Lyons GD. Tracheomalacia repair using ceramic rings. *Otolaryngol Head Neck Surg* 1992; 106:270-274.
- 168- Planell JA, Gil FJ. Contribution of metals and alloys to design and development of biomaterials. *An Quim Int Ed* 1997; 93:S17-S21.
- 169- Bucher RM, Burnett E, Rosemond GP. Experimental reconstruction of the tracheal and bronchial defects with stainless steel wire mesh. *J Thoracic Surg* 1951; 21:572.
- 170- Keshishian JM, Blades B, Beattie EJ Jr. Tracheal reconstruction. *J Thoracic Surg* 1956; 32:707-727.
- 171- Bailey BJ, Kosoy J. Observations in the development of tracheal prostheses and tracheal transplantation. *Laryngoscope* 1970; 80:1553-1565.

-
- 172- Zarzal GH, Deutsch E. External fixation using microplates after laryngotracheal expansion surgery. An animal study. *Arch Otolaryngol Head Neck Surg* 1991; 117:155-159.
- 173- Weisberger EC, Nguyen CT. Laryngotracheal reconstruction using a vitallium alloy miniplate. *Ann Otol Rhinol Laryngol* 1996; 105:363-366.
- 174- Rob CG, Bateman GH. Reconstruction of the trachea and cervical esophagus: preliminary report. *Br J Surg* 1949; 37:202-205.
- 175- San Román J. Recent contributions of polymers to the design of biomaterials for clinical and surgical applications. *An Quim Int Ed* 1997; 93:S22-S31.
- 176- Robey TC, Eiselt PM, Murphy HS, Mooney DJ, Weatherly RA. Biodegradable external tracheal stents and their use in a rabbit tracheal reconstruction model. *Laryngoscope* 2000; 110:1936-1942.
- 177- Long CM, Conley SF, Kajdacsy-Balla A, Kerschner JE. Laryngotracheal reconstruction in canines. Fixation of autologous costochondral grafts using polylactic and polyglycolic acid miniplates. *Arch Otolaryngol Head Neck Surg* 2001; 127:570-575.
- 178- Pearson SE, Rimell F, Stelow EB, Pernell K. Tracheal reconstruction with a synthetic material in a porcine model. *Ann Otol Rhinol Laryngol* 2001; 110:718-722.
- 179- Nelson RJ, Goldberg L, White RA, Shors E, Hirose FM. Neovascularity of a tracheal prosthesis/tissue complex. *Surgery* 1983; 86:800-808.
- 180- Jacobs JR. Investigations into tracheal prosthetic reconstruction. *Laryngoscope* 1988; 98:1239-1245.
- 181- Suh SW, Kim J, Baek CH, Kim H. Development of new tracheal prosthesis: autogenous mucosa-lined prosthesis made from polypropylene mesh. *Int J Artif Organs* 2000; 23:261-267.
- 182- Okumura N, Nakamura T, Natsume T, Tomihata K, Ikada Y, Shimizu Y. Experimental study on a new tracheal prosthesis made from collagen-conjugated mesh. *J Thorac Cardiovasc Surg* 1994; 108:337-345.
- 183- Nakamura T, Teramachi M, Sekine T, Kawanami R, Fukuda S, Yoshitani M, Toba T, Ueda H, Hori Y, Inoue M, Shigeno K, Nakahara Taka T, Liu Y, Tamura N, Shimizu Y. Artificial trachea

- and long term follow-up in carinal reconstruction in dogs. *Int J Artif Organs* 2000; 23:718-724.
- 184- Sekine T, Nakamura T, Matsumoto K, Liu Y, Ueda H, Tamura N, Shimizu Y. Carinal reconstruction with a Y-shaped collagen-conjugated prosthesis. *J Thorac Cardiovasc Surg* 2000; 119:1162-1168.
- 185- Borrie J, Redshaw NR. Prosthetic tracheal replacement. *J Thorac Cardiovasc Surg* 1970; 60:829-835.
- 186- Demos NJ, Mitnick H, McCally D, Feinberg E, McKeon J, Timmes JJ. Tracheal regeneration in long-term survivors with silicone prosthesis. *Ann Thorac Surg* 1973; 16:293-300.
- 187- Neville WE, Bolanowski PJP, Soltanzadeh H. Prosthetic reconstruction of the trachea and carina. *J Thorac Cardiovasc Surg* 1976; 72:525-538.
- 188- Fayad J, Kuriloff DB. Prefabricated microvascular autograft in tracheal reconstruction. *Otolaryngol Head Neck Surg* 1994; 111:396-406.
- 189- Toledano A. Reconstrucción traqueal con prótesis de polietileno: un estudio experimental en ratas. Tesis doctoral. UAM, 1996.
- 190- Beall AC Jr, Harrington OB, Greenberg SD, Morris GC Jr, Usher FC. Tracheal replacement with heavy Marlex mesh. Circumferential replacement of the cervical trachea. *Arch Surg* 1962; 84:390-396.
- 191- Pearson FG, Henderson RD, Gross AE, Ginsberg RJ, Stone RM. The reconstruction of circumferential tracheal defects with a porous prosthesis. An experimental and clinical study using heavy Marlex mesh. *J Thorac Cardiovasc Surg* 1968; 55:605-616.
- 192- Moghissi K. Tracheal reconstruction with a prosthesis of Marlex mesh and pericardium. *J Thorac Cardiovasc Surg* 1975; 69:499-506.
- 193- Sauer BW, Lade RB. Porous high density polyethylene (PHDPE)-autogenous tissue tracheal prosthesis. *Trans Am Soc Intern Organs* 1982; 28:369-371.
- 194- Portnoy WM. Communication personal. 2nd International Symposium of Laryngeal and tracheal reconstruction. Mayo 1996. Montecarlo, Mónaco.

-
- 195- Yildirim G, Haliloglu T, Sapçi T, Kahvecioglu O, Onar V, Savci N, Karavus A. Tracheal reconstruction with porous high-density polyethylene tracheal prosthesis. *Ann Otol Rhinol Laryngol* 2000; 109:981-987.
- 196- Hashem FK, Al Homsy M, Mahasin ZZ, Gammas MA. Laryngotracheoplasty using the Medpor implant: an animal model. *J Otolaryngol* 2001; 30:334-339.
- 197- Kramish D, Marfit HM. The use of Teflon prosthesis to bridge complete sleeve defects in the human trachea. *Am J Surg* 1963; 106:704-708.
- 198- Shaha A, DiMaio T, Money S, Krespi Y, Jaffe BM. Prosthetic reconstruction of the trachea. *Am J Surg* 1988; 156:306-309.
- 199- Guijarro Jorge R, Sanchez-Palencia Ramos A, Cueto Ladron de Guevara A, Marti Huedo F, De Vega MG, Paris Romeu F. Experimental study of a new porous tracheal prosthesis. *Ann Thorac Surg* 1990; 50:281-287.
- 200- Lykoudis EG, Tsoutsos DA, Papalois AE, Frangia KB, Stamatopoulos CN, Ioannovich JD. Prefabrication of an axial bio-synthetic flap for circumferential tracheal defect reconstruction. *Br J Plast Surg* 2000; 53:508-515.
- 201- Brody GS. Silicone technology for the plastic surgeon. Plastic and reconstructive breast surgery. *Clin Plast Surg* 1988; 15:517-520.
- 202- Gabriel SE, O'Fallon WM, Kurland LT, Beard CM, Wood JE, Melton LJ. The risk of connective tissue diseases and other disorders after breast implantation. *N Engl J Med* 1994; 330:1697-1702.
- 203- Berghaus A. Porous polyethylene in reconstructive head and neck surgery. *Arch Otolaryngol* 1985; 111:154-160.
- 204- Rubin LR. Polyethylene as a bone and cartilage substitute: a 32 year prospective. In: Rubin LR, ed. *Biomaterials in reconstructive surgery*. St Louis, CV Mosby; 1983:474-493.
- 205- Wellisz T. Reconstruction of the burned ear using a Medpor® porous polyethylene pivoting helix framework. *Plast Reconstr Surg* 1993; 91:811-818.
- 206- Wellisz T. Clinical experience with the Medpor porous polyethylene implant. *Aesth Plast Surg*

- 1993; 17:339-344.
- 207- Willians JD, Romo T 3rd, Sclafani A, Cho H. Porous high-density polyethylene implants in auricular reconstruction. *Arch Otolaryngol Head Neck Surg* 1997; 123:578-583.
- 208- Romo T 3rd, Sclafani AP, Sabini P. Use of porous high-density polyethylene in revision rhinoplasty and in the platyrrhine nose. *Aesth Plast Surg* 1998; 22:211-221.
- 209- Niechajev I. Porous polyethylene implants for nasal reconstruction: clinical and histologic studies. *Aesth Plast Surg* 1999; 23:395-402.
- 210- Romo T 3rd, Sclafani AP, Falk AN, Toffel PH. A graduated approach to the repair of nasal septal perforations. *Plast Reconstr Surg* 1999; 103:66-75.
- 211- Romo T 3rd, Sclafani AP, Jacono AA. Nasal reconstruction using porous polyethylene implants. *Facial Plast Surg* 2000; 16:55-61.
- 212- Jacobs JP, Quintessenza JA, Andrews T, Burke RP, Spektor Z, Delius RE, Smith RJH, Elliot MJ, Herberhold C. Tracheal allograft reconstruction: the total north american and woldwide pediatric experiences. *Ann Thorac Surg* 1999; 68:1043-1052.
- 213- Herberhold C, Franz B, Breipohl W. Chemisch-konservierte menschliche trachea als prothesenmaterial zur deckung tracheales defekte. *Laryng Rhinol* 1980; 59:453-457.
- 214- Beigel A, Muller-Ruchholtz W. Tracheal transplantation: I. The immunogenic effect of rat tracheal transplants. *Arch Otorhinolaryngol* 1984; 240:185-192.
- 215- Beigel A, Muller-Ruchholtz W. Tracheal transplantation: II. Influence of genetic difference and degree of sensitization on reactions to the tracheal transplant. *Arch Otorhinolaryngol* 1984; 240:217-225.
- 216- Bujia J, Wilmes E, Hammer C, Kastenbaner E. Tracheal transplantation: demostration of HLA class II subregion gene products on human trachea. *Acta Otolaryngol* 1990; 110:149-154.
- 217- Bujia J, Wilmes E, Hammer C, Kastenbaner E. A comparison of class II antigenicity of human tracheal allografts stored in cialit and in merthiolate. *Laryngoscope* 1990; 100:1337-1340.
- 218- Bujia J, Wilmes E, Hammer C, Kastenbaner E. Class II antigenicity of human cartlage:

- relevance to the use of homologous cartilage graft for reconstructive surgery. *Ann Plast Surg* 1991; 26:541-543.
- 219- Liu Y, Nakamura T, Yamamoto Y, Matsumoto K, Sekine T, Ueda H, Shimizu Y. A new tracheal bioartificial organ: evaluation of a tracheal allograft with minimal antigenicity after treatment by detergent. *ASAIO J* 2000; 46:536-539.
- 220- Yokomise H, Inui K, Wada H, Ueda M, Hitomi S. Long-term cryopreservation can prevent rejection of canine tracheal allografts with preservation of graft viability. *J Thorac Cardiovasc Surg* 1996; 111:930-934.
- 221- Murakawa T, Nakajima J, Motomura N, Murakami A, Takamoto S. Successful allotransplantation of cryopreserved tracheal grafts with preservation of the pars membranacea in nonhuman primates. *J Thorac Cardiovasc Surg* 2002; 123:153-160.
- 222- Kunachak S, Kulapaditharom B, Vajaradul Y. Cryopreserved, irradiated tracheal homograft transplantation for laryngotracheal reconstruction in human beings. *Otolaryngol Head Neck Surg* 2000; 122:911-916.
- 223- Zarzal GH, Barber CS, Chandra R. Tracheal reconstruction using irradiated homologous grafts in rabbits. *Otolaryngol Head Neck Surg* 1989; 100:119-125.
- 224- Liu Y, Nakamura T, Shimizu Y, Ueda H, Yoshitani M, Toba T, Fukuda S. Tracheal allotransplantation in beagle dogs without immunosuppressants. *Ann Thorac Surg* 2001; 72:1190-1194.
- 225- Gannon PJ, Costantino PD, Lueg EA, Chaplin JM, Brandwein MS, Passalacqua PJ, Fliegelman LJ, Laitman JT, Marquez S, Urken ML. Use of the peritracheal fold in the dog tracheal transplantation model. *Arch Otolaryngol Head Neck Surg* 1999; 125:959-963.
- 226- Li CH, Evans HM, Simpson ME. Isolation and properties of the anterior pituitary GH. *J Biol Chem* 1945; 159:353-366.
- 227- Li CH, Papkoff H. Preparation and properties of growth hormone from human and monkey pituitary glands. *Science* 1956; 124:1293-1294.
- 228- Raben MS. Preparation of growth hormone from pituitaries of man and monkey. *Science* 1957; 125:883-884.

-
- 229- Raben MS. Clinical use of human growth hormone. *New Engl J Med* 1962; 280:82-86.
- 230- Glick SM, Roth J, Yalow RS, Benson S. The regulation of growth hormone secretion. *Recent Prog Horm Res* 1965; 21:241-283.
- 231- Li CH, Dixon JS. Human pituitary growth hormone. XXXII. The primary structure of the hormone: revision. *Arch Biochem Biophys* 1971; 146:233-236.
- 232- Devesa J, García Barros M, Costoya JA, Gondar M, Gavrilina T, Gavrilina M. Expresión de los genes de hormona de crecimiento, variantes moleculares y acciones biológicas de estas variantes. En: Moreno Esteban B, Tresguerres JAF, eds. Retrasos del crecimiento. Madrid: Díaz de Santos; 1996:29-44.
- 233- Merimee TJ, Rabin D. A survey of growth hormone secretion and action. *Metabolism* 1973; 22:1235-1251.
- 234- Ayling CM, Moreland BH, Zanelli JM, Schulster D. Human growth hormone treatment of hypophysectomized rats increases the proportion of type-1 fibres in skeletal muscle. *J Endocrinol* 1989; 123:429-435.
- 235- Rodriguez F, Torres M. El crecimiento, bases fisiológicas. En: Moreno Esteban B, Tresguerres JAF, eds. Retrasos del crecimiento. Madrid: Díaz de Santos; 1996:15-27.
- 236- Devesa J. Hormona de crecimiento y somatomedinas: acciones biológicas y control de su secreción. En: Tresguerres JAF, ed. Fisiología endocrina. Madrid: Eudema; 1989:145-177.
- 237- Tresguerres JAF. Somatomedinas (IGFs) y sus proteínas transportadoras. En: Moreno Esteban B, Tresguerres JAF, eds. Retrasos del crecimiento. Madrid: Díaz de Santos; 1996:61-72.
- 238- Rivier J, Spiess J, Thorner MD, Vale W. Characterization of a growth hormone-releasing factor from a human pancreatic islet tumor. *Nature* 1982; 300:276-278.
- 239- Arsenijevic Y, Rivest WR, Eshkol A, Sizonenko PC, Aubert ML. Plasma growth hormone (GH) response to intravenous GH-releasing factor (GRF) in adult rats evidence for transient pituitary desensitization after GRF stimulation. *Endocrinology* 1987; 121:1487-1496.
- 240- Tannenbaum GS, Rorstad O, Brazeau P. Effects of prolonged food deprivation on the

- ultradian growth hormone rhythm and immunoreactive somatostatin tissue levels in the rats. *Endocrinology* 1979; 104:1733-1738.
- 241- Widmer U, Zapf J, Froesch ER. Somatomedins and hGH activity. *Pediatr Adol Endocrinol* 1983; 12:133-146.
- 242- Barreca A, Minuto F, Volpe A, Cecchelli E, Cella F, Del Monte P, Artini P, Giordano GI. Insulin like growth factor-I (IGF-I) and IGF-I binding protein in the follicular fluids of growth hormone treated patients. *Clin Endocrinol (Oxf)* 1990; 32:497-505.
- 243- Laron Z, Kliger B, Blum WF, Silbergeld A, Ranke MB. IGF binding protein in patients with Laron type dwarfism: effect of exogenous rIGF-I. *Clin Endocrinol (Oxf)* 1992; 36:301-304.
- 244- Hintz RL, Suskind R, Amatayakul K, Thanangkul O, Olson R. Plasma somatomedin and growth hormone values in children with protein-calorie malnutrition. *J Pediatr* 1978; 92:153-156.
- 245- Valentini L, Hölzenbein T, Winkler S, Sautner T, Ollenschläger G, Hörtnagl H, Karner J, Roth EI. Acute effects of insulin-like growth factor I on interorgan glucose and lactate flux in protein-catabolic dogs. *J Surg Res* 1995; 59:606-613.
- 246- Van Wyk JJ, Casella SJ, Hymes M, Lund PK. Indirect actions of growth hormone. En: Underwood LE, ed. Human growth hormone. Progress and challenges. New York: Basel, Marcel Dekker; 1988:25-61.
- 247- Mjaaland M, Unneberg K, Bjoro T, Revhaug A. Growth hormone treatment after abdominal surgery decreased carbohydrate oxidation and increased fat oxidation in patients with total parenteral nutrition. *Metabolism* 1993; 42:185-190.
- 248- Hammarqvist F, Strömberg C, von der Decken A, Vinnars E, Wernerman J. Biosynthetic human growth hormone preserves both muscle protein synthesis and the decrease in muscle-free glutamine, and improves whole-body nitrogen economy after operation. *Ann Surg* 1992; 216:184-191.
- 249- Williams T, Berelowitz M, Joffe SN, Thorner MO, Rivier J, Vale W, Frohman LA. Impaired growth hormone responses to growth hormone releasing factor in obesity. A pituitary defect reversed with weight reduction. *N Engl J Med* 1984; 311:1403-1407.

-
- 250- Iglesias P, Díez JJ, Gómez Pan A. Empleo terapéutico de la hormona de crecimiento en adultos. En: Moreno Esteban B, Tresguerres JAF, eds. Retrasos del crecimiento. Madrid: Díaz de Santos; 1996:377-395.
- 251- Bratusch-Marrain PR, Smith D, DeFronzo RA. The effect of growth hormone on glucose metabolism and insulin secretion in man. *J Clin Endocrinol Metab* 1982; 55:973-982.
- 252- Ulshen MH, Dowling RH, Fuller CR, Zimmermann EN, Lund PK. Enhanced growth of small bowel in transgenic mice overexpressing bovine growth hormone. *Gastroenterology* 1993; 104:973-980.
- 253- Prudden JF, Nishimura G, Ocampo L. Studies on growth hormone. The effect on wound tensile strength of marked postoperative anabolism induced with growth hormone. *Sur Gyn Obst* 1958; 107:481-482.
- 254- Yamada K, Yoshitake K, Sato M, Ahnen DJ. Proliferating cell nuclear antigen expression in normal preneoplastic and neoplastic colonic epithelium of the rat. *Gastroenterology* 1992; 103:160-167.
- 255- Isaksson OGP, Janson JO, Gause IAM. Growth hormone stimulates longitudinal bone growth directly. *Science* 1981; 216:1237-1244.
- 256- Barreca A, Artini PG, Del Monte P, Ponzani P, Pasquini P, Cariola G Volpe A, Genazzani AR, Giordani G, Minuto F. In vivo and in vitro effect growth hormone on estradiol secretion by human granulosa cells. *J Clin Endocrinol Metab* 1993; 77:61-67.
- 257- Almqvist O, Thoren M, Saaf M, Eriksson O. Effects of growth hormone substitution on mental performance in adults with growth hormone deficiency a pilot study. *Psychoneuroendocrinology* 1996; 11:347-352.
- 258- Sotos JF. Nuevas adquisiciones y uso potencial de la hormona de crecimiento. *An Esp Pediatr* 1992; 36:S166-S181.
- 259- Mjaaland M, Unneberg K, Hotvedt R, Revhaug A. Nitrogen retention caused by growth hormone in patients undergoing gastrointestinal surgery with epidural analgesia and parenteral nutrition. *Eur J Surg* 1991; 157:21-27.
- 260- Ziegler TR, Rombeau JL, Young LS, Fong Y, Marano M, Lowry SF, Wilmore DW.

- Recombinant human growth hormone enhances the metabolic efficacy of parenteral nutrition: a double-blind, randomized controlled study. *J Clin Endocrinol Metab* 1992; 74:865-873.
- 261- Takala J, Ruokenen E, Webster N, Nielsen MS, Zandstra DF, Vundelinckx G, Hinds CJ. Increased mortality associated with growth hormone treatment in critically ill patients. *N Engl J Med* 1999; 341:785-792.
- 262- Ziegler TR, Lazarus JM, Young LS, Hakim R, Wilmore DW. Effects of recombinant human growth hormone in adults receiving maintenance hemodialysis. *J Am Soc Nephrol* 1991; 2:1130-1135.
- 263- Saadeh E, Alp Ikizler T, Shyr Y, Hahim RM, Himmelfarb J. Recombinant human growth hormone in patients with acute renal failure. *J Ren Nutr* 2001; 11:212-219.
- 264- Laville M, Fouque D. Nutritional aspects in hemodialysis. *Kidney Int* 2000; 58:S133-S139.
- 265- Kotzmann H, Yilmaz N, Lercher P, Riedl M, Schmidt A, Schuster E, Kreuzer S, Geyer G, Frisch H, Hörl WH, Mayer G, Luger A. Differential effects of growth hormone therapy in malnourished hemodialysis patients. *Kidney Int* 2001; 60:1578-1585.
- 266- Goldstein S, Askanazi J, Weissman C, Thmashaw B, Kinney JM. Energy expenditure in patients with chronic obstructive pulmonary disease. *Chest* 1987; 91:222-224.
- 267- Marcus R, Butterfield G, Holloway L, Gilliland L, Baylink DJ, Hintz RL, Sherman DM. Effects of short term administration of recombinant human growth hormone to elderly people. *J Clin Endocrinol Metab* 1990; 70:519-527.
- 268- Salomon F, Cuneo RC, Hesp R, Sonksen PH. The effects of treatment with recombinant human growth hormone on body composition and metabolism in adults with growth hormone deficiency. *N Engl J Med* 1989; 321:1797-1803.
- 269- Rudman D, Feller AG, Nagrag HS, Gergans GA, Lalitha PY, Goldberg AF, Schlenker RA, Cohn L, Rudman IW, Mattson DE. Effects of human growth hormone in men over 60 years old. *N Engl J Med* 1990; 323:1-6.
- 270- Sullivan DH, Carter WJ, Warr WR, Williams LH. Side effects resulting from the use of growth hormone and insulin-like growth factor-I as combined therapy to frail elderly patients. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci* 1998; 53:M183-M187.

-
- 271- Waago H. Local treatment of ulcers in diabetic foot with human growth hormone. *Lancet* 1987; 1:1485.
- 272- Adamson U, Efendic S. Insulin like and diabetogenic effects of growth hormone in healthy subjects diabetics and low insulin responders. *J Clin Endocrinol Metab* 1979; 49:456-461.
- 273- Mulligan K, Tai VW, Schambelan M. Use of growth hormone and other anabolic agents in AIDS wasting. *JPEN J Parenter Enteral Nutr* 1999; 23:S202-S209.
- 274- Hill K, Bucuvalas J, McClain C, Kryscio R, Thompson Martini R, Alfaro MP, Maloney M. Pilot study of growth hormone administration during the refeeding of malnourished anorexia nervosa patients. *J Child Adolesc Psychopharmacol* 2000; 10:3-8.
- 275- Clemmons DR, Underwood LE. Growth hormone as a potential adjunctive therapy for weight loss. En: Underwood LE, ed. Human growth hormone. Progress and challenges. New York: Basel, Marcel Dekker; 1988:207-217.
- 276- Norrelund H, Borglum J, Lunde Jorgensen JO, Richelsen B, Moller N, Sreekumaran Nair K, Sandhl Christiansen J. Effects of growth hormone administration on protein dynamics and substrate metabolism during 4 weeks of dietary restriction in obese women. *Clin Endocrinol (Oxf)* 2000; 52:305-312.
- 277- Nam SY, Kim KR, Cha BS, Song YD, Lim SK, Lee HC, Huh KB. Low-dose growth hormone treatment combined with diet restriction decreases insulin resistance by reducing visceral fat and increasing muscle mass in obese type 2 diabetic patients. *Int J Obes Relat Metab Disord* 2001; 25:1101-1107.
- 278- Crist DM, Peake GT, Egan PA, Waters DL. Body composition response to exogenous GH during training in highly conditioned adults. *J Appl Physiol* 1985; 65:579-584.
- 279- Vázquez I, Gómez-de-Segura IA, Grande AG, Escribano A, González-Gancedo P, Gómez A, Díez R, De Miguel E. Protective effect of enriched diet plus growth hormone administration on radiation-induced intestinal injury and on its evolutionary pattern in the rat. *Dig Dis Sci* 1999; 44:2350-2358.
- 280- Ortega M, Gómez-de-Segura IA, Vázquez I, López JM, de Guevara CL, De-Miguel E. Effects of growth hormone plus a hiperproteic diet on methotrexate-induced injury in rat intestines.

Acta Oncol 2001; 40:615-621.

- 281- Fadrique B, Lopez JM, Bermudez R, Gomez de Segura IA, Vazquez I, De Miguel E. Growth hormone plus high protein diet promotes adaptation after massive bowel resection in aged rats. *Exp Gerontol* 2001; 36:1727-1737.
- 282- Garcia-Sancho Tellez L Jr, Gomez de Segura IA, Vazquez I, De Miguel E, Garcia-Sancho L. Growth hormone effects in intestinal adaption after massive bowel resection in the suckling rat. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 2001; 33:477-482.
- 283- Adamson U, Cerasi E. Acute effects of exogenous growth hormone in man. Time and dose bound modification of glucose tolerance and glucose induced insulin realese. *Acta Endocrinol* 1975; 80:247-261.
- 284- Ituarte EA, Petrini J, Hershman JM. Acromegaly and colon cancer. *Ann Inter Med* 1984; 101:627-628.
- 285- Klein Y, Parveen G, Gavaler JS, Vanthiel DH. Colonic polyps in patients with acromegaly. *Ann Inter Med* 1982; 97:27-30.
- 286- Cohen S. Isolation of a mouse submaxillary gland protein accelerating eruption and eyelid opening in the newborn animal. *J Biol Chem* 1962; 237:1555-1559.
- 287- Nettesheim P, Ferriola P, Steigerwalt R, Robertson A, Rundhaug J. The role of growth factors in the regulation of proliferation of tracheobronchial epithelium. *Chest* 1992; 101:S23-S24.
- 288- King JD, Stringer SP, Chegini N, Donnelly WH, Cassisi NJ, Schultz GS. TGF-alpha protein localization in laryngotracheal tissue. *Otolaryngol Head Neck Surg* 1993; 109:915-925.
- 289- Clark AB, Randell SH, Nettesheim P, Gray TE, Bagnell B, Ostrowski LE. Regulation of ciliated cell differentiation in cultures of rat tracheal epithelial cells. *Am J Respir Cell Mol Biol* 1995; 12:329-338.
- 290- Van Scott MR, Lee NP, Yankaskas JR, Boucher RC. Effect of hormones on growth and function of cultured canine tracheal epithelial cells. *Am J Physiol* 1988; 255:C237-C245.
- 291- Baeza-Squiban AE, Boisvieux-ulrich C, Guilianelli O, Houcine G, Geraud C, Guennou C, Marano F. Extracellular matrix-dependent differentiation of rabbit tracheal epithelial cells in

- primary culture. *In Vitro Cell Dev Biol* 1994; 30A:56-67.
- 292- Adler KB, Cheng PW, Kim KC. Characterization of guinea pig tracheal epithelial cells maintained in biphasic organotypic culture: cellular composition and biochemical analysis of released glycoconjugates. *Am J Resp Cell Mol Biol* 1990; 2:145-154.
- 293- de Jong PM, van Sterkenburg MAJA, Hesseling SC, Kempenaar JA, Mulder AA, Mommaas AM, Dijkman JH, Ponc M. Ciliogenesis in human bronchial epithelial cells cultured at the air-liquid interface. *Am J Resp Cell Mol Biol* 1994; 10:271-277.
- 294- Jorissen M, Van der Schueren B, Van der Berghe H, Cassiman JJ. Ciliogenesis in cultured human nasal epithelium. *ORL* 1990; 52:368-374.
- 295- Whitcutt MJ, Adler KB, Wu R. A biphasic chamber system for maintaining polarity of differentiation of cultured respiratory tract epithelial cells. *In Vitro Cell Dev Biol* 1988; 24:420-428.
- 296- Yamaya M, Finkbeiner WE, Chun SY, Widdicombe JH. Differentiated structure and function of cultures from human tracheal epithelium. *Am J Physiol* 1992; 262:L713-L724.
- 297- Rundhaug JE, Gray T, Steigerwalt RW, Nettesheim P. Changes in responsiveness of tracheal epithelial cells to transforming growth factor- β 1 with time in culture. *J Cell Physiol* 1992; 152:281-291.
- 298- Chopra DP, Kern RC, Mathieu PA, Jacobs JR. Successful in vitro growth of human respiratory epithelium on a tracheal prosthesis. *Laryngoscope* 1992; 102:528-531.
- 299- Guzman K, Randell SH, Nettesheim P. Epidermal growth factor regulates expression of the mucous phenotype of rat tracheal epithelial cells. *Biochem Biophys Res Commun* 1995; 217:412-418.
- 300- Gray TE, Guzman K, Davis W, Abdullah LH, Nettesheim P. Mucociliary differentiation of serially passaged normal human tracheobronchial epithelial cells. *Am J Respir Cell Mol Biol* 1996; 14:104-112.
- 301- Walner DL, Heffelfinger SC, Stren Y, Abrams MJ, Miller A, Cotton RT. Potential role of growth factors and extracellular matrix in wound healing after laryngotracheal reconstruction. *Otolaryngol Head Neck Surg* 2000; 122:363-366.



-
- 302- Dodge-Khatami A, Backer CL, Holinger LD, Mavroudis C, Cook KE, Crawford SE. Healing of a free tracheal autograft is enhanced by topical vascular endothelial growth factor in an experimental rabbit model. *J Thorac Cardiovasc Surg* 2001; 122:554-561.
- 303- Olech VM, Keshavjee SH, Chamberlain DW, Slutsky AS, Patterson GA. Role of basic fibroblast growth factor in revascularization of rabbit tracheal autografts. *Ann Thorac Surg* 1991; 52:258-264.
- 304- Nakanishi R, Nagaya N, Yoshimatsu T, Hanagiri T, Yasumoto K. Optimal dose of basic fibroblast growth factor for long-segment orthotopic tracheal autografts. *J Thorac Cardiovasc Surg* 1997; 113:26-36.
- 305- Sung SW, Won T. Effects of basic fibroblast growth factor on early revascularization and epithelial regeneration in rabbit tracheal orthotopic transplantation. *Eur J Cardiothorac Surg* 2001; 19:14-18.
- 306- Reznik GK. Comparative anatomy, physiology, and function of upper respiratory tract. *Environ Health Perspect* 1990; 85:171-176.
- 307- Spicer SS, Setser ME, Mochizuki I, Simson JAV. The histology and fine structure of glands in the rat respiratory tract. *Anat Rec* 1982; 202:33-43.
- 308- Banks WJ. Histología veterinaria aplicada. El Manual Moderno. 2ª Ed. 1996.
- 309- Sclafani AP, Romo T 3rd, Silver L. Clinical and histologic behavior of exposed porous high-density polyethylene implants. *Plast Reconstr Surg* 1997; 99:41-50.
- 310- Gibbons JA, Peniston RL, Raflo CP, Diamond SS, Aaron BL. A comparison of synthetic absorbable suture with synthetic nonabsorbable suture for construction of tracheal anastomoses. *Chest* 1981; 79:340-342.
- 311- Behrend M, Klempnauer J. Influence of suture material and technique on end-to-end reconstruction in tracheal surgery: an experimental study in sheep. *Eur Surg Res* 2001; 33:210-216.
- 312- Kacker A, Huo J. Reinforcement of an end-to-end tracheal resection anastomosis with fibrin glue: a case report. *Ear Nose Throat J* 2001; 80:234-238

-
- 313- Sasajima T, Yamazaki K, Sugimoto H, Hirata S, Yatsuyanagi E. Successful repair of tracheal defect using gelatin-resorcin-formaldehyde-glue-reinforced fascia patch. *Thorac Cardiovasc Surg* 2000; 48:159-161.
- 314- Friedman E, Perez-Atayde AR, Silvera M, Jonas RA. Growth of tracheal anastomoses in lambs. Comparison of PDS and Vicryl suture material and interrupted and continuous techniques. *J Thorac Cardiovasc Surg* 1990; 100:188-193.
- 315- Paulsson M, Kober M, Freij-Larsson C, Stollenwerk M, Wesslén B, Ljungh. Adhesion of staphylococci to chemically modified and native polymers, and the influence of preadsorbed fibronectin, vitronectin and fibrinogen. *Biomaterials* 1993; 14:845-853.
- 316- Clarke DE, Raffin TA. Infectious complications of indwelling long-term central venous catheters. *Chest* 1990; 97:96-972.
- 317- Zimmerli W, Waldvogel FA, Vaudaux P, Nydegger UE. Pathogenesis of foreign body infection: description and characteristics of an animal model. *J Infect Dis* 1982; 146:487-497.
- 318- Karlan MS, Mufson RA, Grizzard MB, Buscemi PA, Hench L, Goldberg EP. Potentiation of infections by biomaterials: a comparison of three materials. *Otolaryngol Head Neck Surg* 1981; 89:528-534.
- 319- Lopez-Lopez G, Pascual A, Perea J. Effect of plastic catheter material on bacterial adherence and viability. *J Med Microbiol* 1991; 34:349-353.
- 320- Hogt AH, Dankert J, de Vries JA, Feijen J. Adhesion of *Staphylococcus epidermidis* and *Staphylococcus saprophyticus* to a hydrophobic biomaterial. *J Gen Microbiol* 1985; 131:2385-2391.
- 321- Klotz SA. Role of hydrophobic interactions in microbial adhesion to plastics used in medical devices. En: Doyle RJ, Rosenberg M, eds. *Microbial Cell Surface Hydrophobicity*. Washington DC: ASM; 1990:107-136.
- 322- Harkes G, Feijen J, Dankert J. Adhesion of *Escherichia coli* on to a series of poly(methacrylates) differing in charge and hydrophobicity. *Biomaterials* 1991; 12:853-860.
- 323- Harris JM, Martin LF. An in vitro study of the properties influencing *Staphylococcus epidermidis* adhesion to prosthetic vascular graft materials. *Ann Surg* 1987; 206:612-620.

- 324- Abbot A, Rutter P. The influence of ionic strength, pH and a protein layer on the interactions between *Streptococcus mutans* and glass surfaces. *J Gen Microbiol* 1983; 129:439-445.

- 325- Sclafani AP, Regan Thomas J, Cox AJ, Cooper MH. Clinical and histologic response of subcutaneous expanded polytetrafluoroethylene (Gore-Tex) and porous high-density polyethylene (Medpor) implants to acute and early infection. *Arch Otolaryngol Head Neck Surg* 1997; 123:328-336.

- 326- Sabini P, Sclafani AP, Romo T 3rd, McCormick SA, Cocker R. Modulation of tissue ingrowth into porous high-density polyethylene implants with basic fibroblast growth factor and autologous blood clot. *Arch Facial Plast Surg* 2000; 2:27-33.

